



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

Facultad de Medicina

USO DE MÉTODOS MATEMÁTICOS PARA EL ANÁLISIS CUANTITATIVO DE
IMÁGENES MOLECULARES BASADAS EN TOMOGRAFÍA POR EMISIÓN DE
POSITRONES

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA:

ARTURO AVENDAÑO ESTRADA

DIRECTOR DE TESIS

DR. MIGUEL ÁNGEL ÁVILA RODRÍGUEZ
FACULTAD DE MEDICINA, UNAM

COMITÉ TUTOR

DR. FRANCISCO VELASCO CAMPO
HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO

DR. IVÁN VELASCO VELÁZQUEZ
INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA, UNAM

CD. MX., JUNIO, 2018.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Agradecimientos

Institucionales

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca número 245297, otorgada para la realización de este trabajo y por la beca mixta otorgada para estancias internacionales.

Al Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas.

A los proyectos UNAM-DGAPA-PAPIIT IT201115 y IT202518

A los proyectos CONACYT número 256093.

Al Programa de Apoyo a los Estudios de Posgrado por el apoyo económico para presentar trabajos en congresos y por el apoyo para la realización de estancias de investigación.

A la Unidad Radiofarmacia-Ciclotrón de la División de Investigación, Facultad de Medicina de la UNAM, por la producción de radiofármacos.

A la Unidad PET/CT de la Facultad de Medicina de la UNAM por la adquisición de imágenes clínicas.

Al área de Medicina Nuclear e Imagen Molecular del Hospital Universitario de la Universidad de Groninga, Holanda por aceptarme a una estancia de investigación.

Al Turku PET Centre en Finlandia por aceptarme como alumno de intercambio.

Al laboratorio Instituto de Fisiología Celular-Neurociencias por proveer al proyecto de un modelo animal de la enfermedad de Parkinson.

Personales

Una tesis es el resultado del esfuerzo de muchas personas, a todas ellas quiero agradecer por su contribuir a este trabajo.

A todo el personal de la Unidad PET/CT y Radiofarmacia-Ciclotrón de la Facultad de Medicina de la UNAM. En el área del MicroPET, a Víctor Manuel Lara, Mallely Ávila[†], Dafne Garduño y a Damaris Albores. En el área de producción a: Fernando Trejo, Gabriela Contreras, Héctor Gama, Armando Flores, Adolfo Zárate, Juan Carlos Manríquez y Efraín Zamora. Al área de adquisición clínica: Iván López Covarrubias, Andrés Sanabria Rodríguez, Paola Moreno Aguirre, Luis Sánchez Garnica, Pamela Leal Cerda, Sara Gorostieta Álvarez, Laura Monroy Granados y Raisa Alejandra Rodríguez Cabrales.

Al doctor Luis Concha, por sus valiosos comentarios que ayudaron a enriquecer esta tesis. Por fungir como tutores en este trabajo, a los doctores Iván Velasco y Francisco Velasco. Del laboratorio del Dr. Iván Velasco, a Óscar Carballo, Rolando Lara y Daniel Cortés por proveer el modelo animal de rata de la enfermedad de Parkinson.

Al personal del Turku PET Centre en Finlandia: Juhani Knuuti por aceptar mi estancia en los laboratorios del Centro, a Francisco López Picón y a Merjia Haaparanta por enseñarme los procedimientos de investigación preclínica, a Jouni y Vesa Oikonen por enseñarme a cuantificar imágenes cerebrales en MATLAB, a Segei Nesterov y Olof Solín por sus enseñanzas.

Al área de Medicina Nuclear e Imagen Molecular del UMCG en Groninga, Holanda. Al Dr. Ronald Boellaard por recibirme en su excelente grupo de trabajo, a Elisabeth Pfaehler por introducirme al fascinante mundo de la radiómica, a Andrea Monroy, Luis Eduardo y Carlos Catasús por las pláticas y a David Vállez por el soporte técnico. A Jurgen Sijbesma del área de Micropet por mostrarme los procedimientos de adquisición de muestras de sangre y su análisis para la cuantificación.

Por último y más importante en el desarrollo intelectual de este trabajo, a Miguel Ángel Ávila por confiar en mi, alentarme y aventurarse a esta área de la cuantificación de datos PET.

Contenido

AGRADECIMIENTOS	3
RESUMEN	7
ABSTRACT	9
PRODUCTOS DE INVESTIGACIÓN	11
GLOSARIO	14
INTRODUCCIÓN GENERAL	16
CAPITULO 1	
<u>COMPARACIÓN ENTRE MÉTODOS DE REFERENCIA CUANTITATIVOS PARA MEDIR LA REPRODUCIBILIDAD DE VALORES DE CAPTACIÓN DE ¹¹C-DTBZ EN CUERPO ESTRIADO DE RATA: PRUEBA RE-PRUEBA</u>	27
CAPITULO 2	
<u>OBTENCIÓN DEL VALOR DVR DE ESTUDIOS DINÁMICOS ¹¹C-DTBZ PET USANDO TIEMPOS CORTOS DE ADQUISICIÓN Y EL MÉTODO DE LOGAN MODIFICADO</u>	41
CAPITULO 3	
<u>USO DE MODELADO MATEMÁTICO PARA CLASIFICAR REGIONES DE CONTROLES SANOS Y PACIENTES DE EPILEPSIA USANDO IMÁGENES PET ADQUIRIDAS CON ¹⁸FFMZ Y ¹⁸FDG</u>	56
CAPITULO 4	
<u>UN NUEVO MÉTODO PARA ANALIZAR PIXEL POR PIXEL IMÁGENES PET PRE Y POST SINÁPTICAS OBTENIDAS CON ¹¹C-DTBZ Y ¹¹C-RAC DE SUJETOS SANOS Y PACIENTES DE PARKINSON.</u>	66
CAPITULO 5	
<u>UNA APLICACIÓN DE LA RADIÓNICA A LAS NEUROCIENCIAS</u>	79

CAPITULO 6

VALIDACIÓN DE MÉTODOS SEMI-CUANTITATIVOS POR MEDIO DE MÉTODOS CUANTITATIVOS 91

CONCLUSIONES GENERALES Y PERSPECTIVAS A FUTURO 101

BIBLIOGRAFÍA 104

ANEXO 112

Resumen

Este trabajo se compone de seis partes independientes entre sí, pero unidas por un lazo común: el estudio de métodos cuantitativos de datos obtenidos de imágenes adquiridas mediante tomografía por emisión de positrones (PET).

Una imagen tomográfica permite inferir información de la anatomía y fisiología de sistemas vivos de forma visual, *a fortiori*, la cuantificación matemática de los datos de una tomografía permite la obtención de información que se relaciona de forma precisa con la anatomía y los procesos fisiológicos y metabólicos.

En el capítulo uno, se presentan y analiza la confiabilidad de diversos métodos usados para cuantificar datos dinámicos PET. Estos métodos usan una región de referencia para obtener valores cuantitativos de forma no invasiva. Se calcula con distintos métodos la captación del radiofármaco ^{11}C -DTBZ en cuerpo estriado de ratas sanas para determinar la reproducibilidad de cada uno de ellos. Estos métodos requieren de la adquisición de datos dinámicos durante más de una hora.

En el capítulo dos, se propone un nuevo método para obtener valores cuantitativos de datos PET reduciendo el tiempo de adquisición, usando una modificación del método de Logan a datos dinámicos adquiridos en tiempos menores a los usados convencionalmente que suelen ser $>1\text{h}$. Para este estudio se analizaron imágenes de ratas sanas y un modelo animal de la enfermedad de Parkinson, además de aplicarlo a estudios en humanos con la enfermedad de Parkinson y controles sanos, obteniendo un método cuantitativo confiable usando tiempos cortos de adquisición (desde 15 minutos).

En el capítulo tres, se muestra una aplicación para cuantificar datos PET, dinámicos y estáticos, usando imágenes obtenidas con ^{18}F -FFMZ y ^{18}F -FDG de pacientes con epilepsia y controles sanos. El objetivo del trabajo fue clasificar regiones corticales de forma semiautomática de pacientes, comparados con los controles sanos, presentando un método usuario-independiente para localizar regiones de captación anormal.

El cuarto capítulo discurre en torno al análisis a nivel pixel de imágenes cerebrales PET, comparando la captación de dos radiofármacos (a distintos tiempos) en el mismo sujeto. Se introduce la normalización anatómica de imágenes PET de cerebros humanos, que permite la comparación a nivel pixel intra- e inter-sujeto. La hipótesis de este trabajo es que la cuantificación combinada de dos radiofármacos es mejor que su análisis de forma independiente. En este capítulo se analiza la captación de los radiofármacos ^{11}C -DTBZ y ^{11}C -RAC en cuerpo estriado de sujetos sanos y enfermos con Parkinson, el primero pre- y el segundo postsináptico, usados para el estudio de la vía dopaminérgica. Se propone un método nuevo de cuantificación, analizando como vectores a las combinaciones de captación a nivel pixel de ambos radiofármacos. Se encontró que los datos analizados como vectores, correlacionan mejor con la clínica comparado con la información analizada de forma independiente.

El quinto capítulo versa sobre una técnica de reciente creación y poco explorada en PET: la radiómica. La radiómica permite obtener cientos de parámetros de una imagen que han demostrado ser de gran utilidad en la cuantificación de imágenes oncológicas. En este trabajo se estudia la posibilidad de aplicar esta nueva técnica a aplicaciones neurológicas no oncológicas, para discriminar sujetos control de pacientes con Parkinson, usando imágenes adquiridas con ^{11}C -DTBZ. Aunque la muestra es pequeña (7 enfermos y 4 controles), se muestra el método como prueba de concepto, encontrando resultados alentadores que permiten clasificar estadísticamente los dos grupos usando parámetros obtenidos de la radiómica de forma semiautomática.

El sexto capítulo engloba la cuantificación completa mediante modelos compartimentales y muestras de sangre, usada para validar métodos más simples usados en clínica como el valor de captación estandarizado (SUV, por sus siglas en inglés). Para lo anterior se utilizaron datos de imágenes adquiridas con el radiofármaco ^{18}F -FLT de pacientes con cáncer de pulmón que recibieron un tratamiento, midiendo el cambio de captación a los siete y 28 días de iniciado su tratamiento, midiendo la diferencia porcentual con los distintos métodos.

Abstract

Positron emission tomography is a powerful molecular imaging technique that allow to infer *in vivo* different biologic processes by the quantification of the image data; this work focuses on methods to obtain quantitative parameters.

Chapter one is an evaluation of the reliability and reproducibility of different reference tissue-based methods to determine the non-displaceable binding potential (BP_{ND}) as a quantitative measure of ^{11}C -DTBZ binding to the VMAT2 in rat striatum using cerebellum as reference region.

In chapter 2, we evaluated the impact of applying Logan reference tissue method in non-zero conditions in different species. Quantitative graphical analysis of PET images requires the acquisition of time consuming dynamic data from the moment of dose injection until the kinetics reaches certain equilibrium. There are some cases where it is difficult to acquire dynamic data from the moment of injection, compromising the accuracy of quantification with limited data. Graphical analysis methods are commonly used in quantitative PET data analysis because of their simplicity and model independence. These methods can be applied with input functions acquired from blood sampling measurements or using a time activity curve from a reference region without specific uptake.

The aim of chapter 3 was to determine brain differences between healthy controls and epileptic patients by automatic segmentation of parametric maps of brain uptake of ^{18}F FMZ using a reference tissue (pons) without specific uptake and also comparing the glucose brain uptake using ^{18}F FDG.

Chapter 4 shows a pixel-wise analysis of pre- and post-synaptic PET images in Parkinson's disease (PD) and healthy controls. We hypothesized that pixelwise analysis could provide information not only on the stage of the disease, but also to differentiate PD from other movement disorders. PET images obtained with ^{11}C -DTBZ and ^{11}C -RAC were analyzed in this study.

The analysis of PET data using new computation techniques such as radiomics is a growing area of research in imageology. This technique has been poorly investigated with

PET images, henceforward in this chapter, the application of radiomics to neuroPET data was investigate comparing PD patients and healthy controls, finding promising results to discriminate between the two groups.

Full quantitative analyses of dynamic PET studies are essential to validate the use of simplified methods and metrics, such as SUVs. However, full quantitative kinetic analysis requires the use of a metabolite corrected plasma input function. The measurement of parent fractions is often associated with poor signal to noise ratio, measurement errors and it is labor intensive. In the last chapter, we investigated if parent fractions could be estimated directly from plasma and blood activity concentrations thereby obviating the need to perform metabolite analysis and/or use estimated values for quality control purposes. In addition, we compare full analysis values with simplified values.

Productos de investigación

Como resultado de esta tesis doctoral, se publicaron los siguientes artículos:

1. **Avendaño-Estrada A**, Avila-Rodríguez MA. Reference tissue models in the assessment of ¹¹C-DTBZ binding to the VMAT2 in rat striatum: A test-retest reproducibility study. *Synapse*. 2018;e22029. <https://doi.org/10.1002/syn.22029>
2. E.L. Aguirre-Benítez, M.G. Porras, L. Parra, J. González-Ríos, D.F. Garduño-Torres, D. Albores- García, **A. Avendaño**, M.A. Ávila-Rodríguez, A.I. Melo, I. Jiménez-Estrada, M.E. Mendoza-Garrido, C. Toriz, K. Mendoza-Ángeles, J. Hernández-Falcón. Disruption of behavior and brain metabolism in artificially reared rats. *Developm. Neurobiol.* 77, 1413-29 (2017).
3. **A. Avendaño-Estrada**, I. Madrazo, O. Kopyov, H. Carrasco-Vargas, J. Altamirano-Ley, M.A. Ávila- Rodríguez, PET molecular imaging of the dopaminergic system in Parkinson 's disease, *Clin Med Img Lib* 2:037 (2016).
4. F. Velasco, S. Llanos, M.A. Avila-Rodriguez, **A. Avendaño-Estrada**, J. Soto, L. Concha, M.G. García-Gomar, J.D. Carrillo-Ruiz, Metabolic changes induced by electrical stimulation of prelemniscal radiations for the treatment of Parkinson 's disease, *Stereotact Funct Neurosurg.* 93, 333-341 (2015).
5. L. Zuñiga-Meneses, **A. Avendaño-Estrada**, M.A. Avila-Rodriguez, Standardized Uptake Values of Liver in Whole Body FDG-PET/CT: An Interpatient Variability Study, *Int. J. Nucl. Med. Mol. Imag.* 3, 21-25 (2014).

Artículo en memoria de congreso:

A. Avendaño-Estrada, V. M. Lara-Camacho, M. C. Ávila-García, M. A. Ávila-Rodríguez, Reproducibility of quantitative measures of binding potential in rat striatum: A test re-test study using DTBZ dynamic PET studies, *AIP C.P.* 1626 110-113 (2014). <https://doi.org/10.1063/1.4901371>

Publicaciones preliminares en revistas internacionales con arbitraje:

1. **Avendaño Estrada**, A., Kramer, G., Frings, V., Vállez García, D., Smit, E., Lammertsma, A. A., Hoekstra, O. & Boellaard, R. Plasma to blood ratio derived parent

fractions for robust plasma input based kinetic analysis of dynamic 18F-FLT PET studies in NSCLC cancer patients. European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging. 44, Suppl 2, p. S442 (2017)

2. **A. Avendaño-Estrada**, M.A. Ávila-Rodríguez, Pixel-wise analysis of PET images obtained with pre- and post-synaptic dopamine receptor radioligands in healthy subjects and Parkinson's disease, J. Neurolog. Sciences 381, S130 (2017).doi:10.1016/j.jns.2017.08.393

3. **A. Avendaño-Estrada**, M.A. Ávila-Rodríguez. Inferring DVR values from short dynamic PET scans of 11C-DTBZ in rat, mouse and human striatum. Journal of Cerebral Blood Flow Metabolism 37(IS), 218 (2017). DOI: 10.1177/0271678X17695989

4. **A. Avendaño-Estrada**, M.A. Avila-Rodriguez, Evaluating the impact of data reduction for the estimation of DVR values using [11]C-DTBZ, J. Nucl. Med. 57, S2-316 (2016).

Participación en Congresos como primer autor

1. XII Mexican Symposium on Medical Physics. Cartel: "Reproducibility of quantitative measures of binding potential in rat striatum, a test re-test study using DTBZ dynamic PET studies" Sociedad Mexicana de Física, Division de Física Médica. (2014) León, Guanajuato.

2. XIV Reunión de Neuroimagen. Cartel: "Acquisition time of dynamical PET studies" Centro de Investigación en Matemáticas. (2014) Guanajuato, Guanajuato.

Society for Neurosciences Annual Meeting: "Optimization and reliability of Logan graphical analysis to gauge binding potential of [11]C-DTBZ in rat striatum using dynamical positron emission tomography". (2014) Washington DC

3. IV congreso de la Federación Mexicana de Organizaciones de Física Medica. Presentación oral: "Optimización del tiempo de adquisición de imágenes dinámicas PET" (2015) San Luis Potosí.

4. Organization for Human Brain Mapping congress. Cartel: "Imaging the dopaminergic pathway of Parkinson disease using three PET radiopharmaceuticals". (2015) Honolulu, Hawaii

5. Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging Annual Meeting. Presentación oral: "Evaluating the impact of data reduction for the estimation of DVR values using [11]C-DTBZ". (2016), San Diego, California.

6. Multidisciplinary workshop on the analysis of medical, physiological and biological data. Presentación oral: "PET imaging of presynaptic and postsynaptic function to evaluate

Parkinson's disease". (2016) Centro de Ciencias de la Complejidad, UNAM, CDMX.

7. International Symposium Molecular Imaging Agents in Medicine. Asistencia. (2017) University Medical Center, Groningen, Holanda.

8. 28th Symposium on Cerebral Blood Flow, Metabolism and Function and 13th conference on Quantification of Brain Function with PET. Cartel: "Inferring DVR values from short dynamic PET scans of 11C-DTBZ in rat, mouse and human striatum. (2017) Berlín, Alemania.

9. 30th Annual Congress of the European Association of Nuclear Medicine (EANM'17) Cartel: "Plasma to blood ratio derived parent fractions for robust plasma input based kinetic analysis of dynamic 18F-FLT PET studies in NSCL cancer patients" (2017) Vienna, Austria.

10. XXIII World congress of Neurology. Presentación oral: "Pixel-wise analysis of PET images obtained with pre- and post-synaptic dopamine receptor radioligands in healthy subjects and Parkinson's disease". (2017) Kioto, Japón.

Glosario

BP: Potencial de unión

CT: Tomografía Computarizada

DVR: Cociente de volumen de distribución

MC: Modelo compartimental

MRI: Imagen por Resonancia Magnética

PET: Tomografía por Emisión de Positrones

Positron: Antipartícula del electrón con masa idéntica, pero carga positiva

PD: Enfermedad de Parkinson

ROI: Región de interés

TAC: Curvas de actividad vs tiempo

VOI: Volumen de interés

“¡Y todavía hay quién se enorgullece de tener ideas brillantes! No: las ideas nos tienen a nosotros, nos subyagan y al cabo nos gobiernan, somos máquinas a su servicio. Eso sí: ingratas e infieles, al menor descuido saltan a otra mente, siempre dispuestas a abandonarnos por un mejor prospecto, alguien capaz de mimarlas y profundizar en ellas con mayor eficacia”

Jorge Volpi en Leer la mente, el cerebro y el arte de la ficción.

Introducción general

"In God we trust. All others must bring data."

W. Edwards Deming

En las últimas tres décadas, el enorme desarrollo que se ha dado de las distintas técnicas tomográficas ha permitido obtener imágenes anatómicas de alta resolución espacial de sistemas vivos (resonancia magnética y tomografía computada) *in vivo*, de manera no invasiva, además de permitir inferir un vasta gama de procesos fisiológicos, metabólicos y bioquímicos a nivel celular y molecular (espectrometría por resonancia magnética nuclear, resonancia magnética funcional, tomografía por emisión de positrones y tomografía computarizada por emisión de fotón único).

Todos estos métodos aportan información anatómica y/o fisiológica, ayudando al entendimiento de numerosos procesos biológicos y cognitivos a nivel clínico y de investigación. A nivel clínico, la imagenología contemporánea es usada para el diagnóstico, seguimiento y entendimiento de un gran número de patologías oncológicas, neurológicas y cardiológicas. A nivel investigación, las tomografías han aportado invaluable información anatómica y de procesos fisiológicos subyacentes a diversas enfermedades y también en procesos normales.

Este trabajo se enfoca en la técnica de tomografía por emisión de positrones (PET, por sus siglas en inglés), basada en la detección simultánea de radiación gamma emitida por fotones de 511 keV provenientes de la aniquilación del par positrón-electrón siguiendo la biodistribución de un radiofármaco marcado con un emisor de positrones.

Tomografía por emisión de positrones

La imagenología PET es una técnica *in vivo* que permite la medición de parámetros bioquímicos por medio de la detección de fármacos marcados con radionúclidos emisores de positrones. Un positrón es la antipartícula del electrón, con la misma masa, pero con carga eléctrica de $+1e$. Los fármacos marcados radioactivamente son llamados radiofármacos. Después de la administración del radiofármaco (vía sanguínea, oral o

respiratoria) y de distribuirse en el tejido vivo, después de un tiempo, el radiofármaco se acumula en el sitio de unión específico para cada radiofármaco el cual es el principal sitio de interés a ser detectado en la imagen.

Cuando un positrón es emitido del radionúclido emisor de positrones, este viaja una corta distancia, usualmente de entre 0-3 mm, dependiendo de la energía cinética del positrón y de la densidad del medio. Mientras viaja a través del tejido, el positrón pierde su energía cinética debido a interacciones electromagnéticas con los electrones del medio., hasta que finalmente, el positrón se encuentra con un electrón y las dos partículas se aniquilan, convirtiendo sus masas en dos fotones gamma, que son emitidos en dirección opuesta (180° si la energía cinética del par electrón-positrón (positronio) al momento de la aniquilación es cero, ligeramente desviado de 180° si existe energía cinética al momento de la aniquilación). Basados en la ecuación de Einstein de conversión masa-energía, $E = mc^2$, la masa de un positrón y un electrón se convierte en dos fotones gamma con una energía de 511 keV cada uno. Los dos fotones son detectados por una cámara PET, la cámara sólo registrará el evento cuando dos fotones, con energía apropiada ($511\text{keV} \pm 15\%$, aproximadamente) son detectados en un pequeño intervalo de tiempo (ns) a 180° (detección en coincidencia). El lugar donde la aniquilación sucede puede ser localizado midiendo una gran cantidad de pares de fotones que son producidos en la misma región.

Los radionúclidos emisores de positrones más usados en estudios PET son ^{15}O , ^{13}N , ^{11}C y ^{18}F , con vidas medias de 2, 10, 20.3, 109.8, minutos, respectivamente. Los radionúclidos ^{15}O , ^{13}N , ^{11}C tienen vida media corta, por lo tanto, se requiere de su producción en un ciclotrón en el centro donde se realizarán los estudios. Algunas ventajas del uso de radionúclidos de vida media corta son la posibilidad de realizar múltiples estudios del mismo sujeto en un corto periodo y con baja radiación ionizante (la radiación ionizante es radiación que tiene alta energía y es capaz de ionizar moléculas). Existen también isótopos de vida media larga ($>1\text{h}$) usados en PET como ^{68}Ga (68 min) y ^{64}Cu (12.7 h) que tienen la ventaja de poder ser transportados del ciclotrón a centros PET periféricos sin ciclotrón, además de permitir seguir procesos biológicos de metabolismo lento.

La forma de producir la mayoría de los radionúclidos usados en PET es por medio de un ciclotrón, el cual acelera iones negativos de hidrógeno en órbitas semiespirales, para producir un haz de protones. Los iones son acelerados por medio de electrodos que

proporcionan energía eléctrica, la aceleración del haz ocurre en un campo magnético producido por una bobina electromagnética, el campo magnético proporciona la fuerza para curvar el haz que origina que las partículas del recorran órbitas semiespirales hacia el radio de extracción, sitio donde las partículas han alcanzado la energía deseada para la reacción nuclear que genera al radioisótopo emisor de positrones, el cual es unido por diversos métodos químicos a algún fármaco o molécula de interés.

Una de las grandes ventajas de la medicina nuclear es la gran diversidad de radiofármacos que se han desarrollados *ex profeso*, permitiendo dirigirlos a blancos moleculares específicos para evaluar los procesos fisiológicos y fisiopatológicos a nivel molecular por medio de la cuantificación de proteínas, receptores, transportadores o procesos biológicos *in vivo* (Serdons et al., 2009).

La captación del radiofármaco depende de su distribución, retención y eliminación; las tasas de transferencia a las que ocurren estos procesos, son dependientes de varios factores: del flujo sanguíneo que transporta el radiofármaco, de la eliminación del radiofármaco desde la sangre a los tejidos, del metabolismo del radiofármaco en el tejido y de la unión del radiofármaco a los sitios específicos o inespecífico (Cunningham et al., 2004). Todos estos procesos son dinámicos, i.e., dependientes del tiempo, lo anterior implica que la distribución del radiofármaco cambia a lo largo del tiempo, por tal motivo, para determinar parámetros cuantitativos de procesos fisiológicos o bioquímicos, es necesario obtener información del radiofármaco a lo largo del tiempo en los diferentes órganos o tejidos de interés.

Lo anterior, puede obtenerse mediante un protocolo de adquisición de datos dinámicos, que consiste en una serie de imágenes obtenidas desde el momento de la administración del radiofármaco hasta que este alcanza un cierto estado de equilibrio. Una vez que se ha acumulado el conocimiento suficiente de los procesos farmacodinámicos del radiofármaco, es posible el desarrollo de protocolos simplificados de imágenes estáticas (Figura I1, izquierda) que proveen información relevante relacionada con la función biológica de interés sin la necesidad de adquisición dinámica.

Un estudio dinámico requiere de la adquisición de varias imágenes durante un intervalo de tiempo (figura I1, derecha), de donde se pueden obtener curvas de actividad contra

tiempo (figura I2) que representan la concentración de actividad a lo largo del tiempo en las distintas regiones de interés.

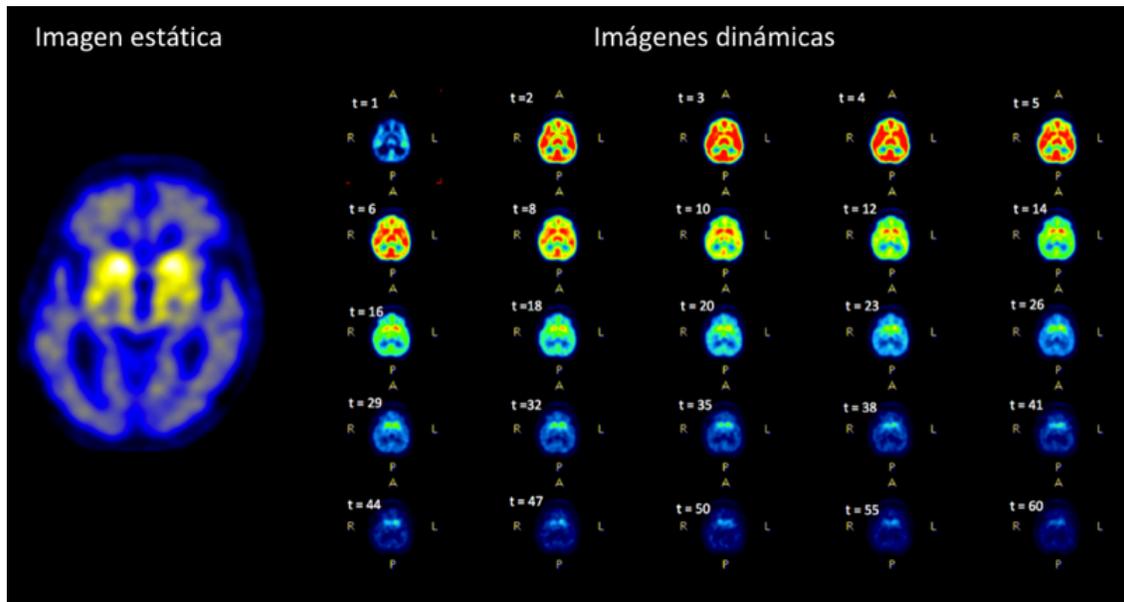


Figura 11. Imágenes transversales de un estudio cerebral PET de $^{11}\text{DTBZ}$ obtenidas de forma estática (izquierda) y dinámica (derecha).

En imágenes de medicina nuclear, la dimensión temporal juega un papel muy importante en términos del tiempo y duración en que se adquiere después de la inyección del radiofármaco (Erlandsson, 2011), por tal motivo, es imprescindible estandarizar protocolos de adquisición que permitan obtener datos confiables y reproducibles.

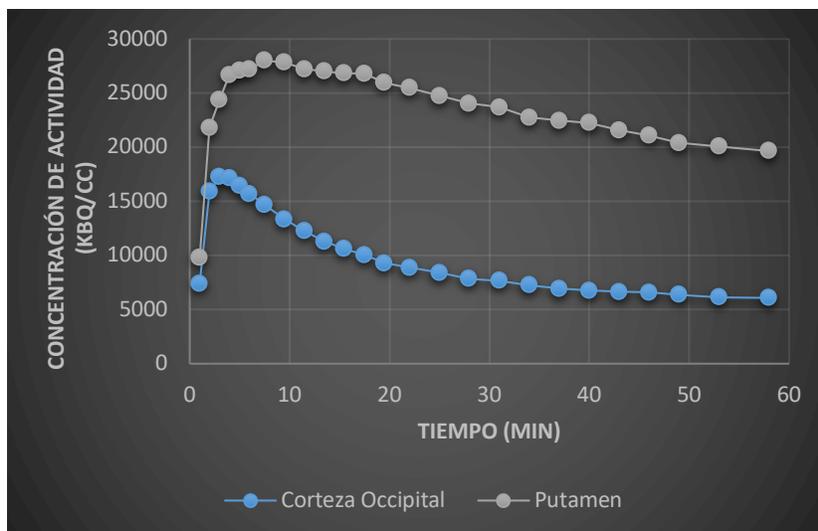


Figura 12. Curva de actividad versus tiempo de la captación de $^{11}\text{DTBZ}$ en putamen (superior) y corteza occipital (inferior) de un estudio en humano.

El análisis de la información cinética se realiza mediante modelos matemáticos de la farmacocinética y farmacodinamia del radiofármaco en los distintos tejidos, usualmente utilizando técnicas de modelado compartimental.

Muchas veces es posible obtener información útil de una imagen PET estática de corta adquisición, permitiendo a los especialistas inferir un diagnóstico realizando un análisis visual de la imagen, sin embargo, el potencial de la información que se puede obtener de una imagen solo resplandece a la luz del análisis cuantitativo.

Modelado compartimental

Como ya se mencionó, para obtener parámetros que se relacionan con procesos fisiológicos de una imagen PET se requiere del modelado compartimental (MC) ya que es el método más preciso para analizar datos PET (Tornasi et al., 2011). El MC describe la interacción de un radiofármaco en el metabolismo en un determinado número de estados físico o químicos (compartimentos) con una determinada cantidad de interconexiones.

El modelado permite estimar constantes de tasas de transferencia, las cuales son útiles para determinar medidas fisiológicas de interés como el volumen de distribución, la densidad de receptores disponibles, la afinidad de un radiofármaco por el receptor, tasas

metabólicas de transferencia, unión receptor-ligando, etc. Los MC requieren de imágenes adquiridas de manera dinámica, es decir información de la concentración de actividad del radiofármaco en función del tiempo y muestras del flujo arterial sanguíneo como función de entrada del sistema (para algunos radiofármacos es posible usar un órgano de referencia sin captación específica).

En el MC se asume que el radiofármaco es transportado entre un número finito de compartimentos distintos que pueden representar regiones separadas en el espacio (e.g., vascular, intestinal, o espacio intracelular) o, alternativamente, diferentes estados químicos (compuesto no metabolizado o *parent fraction*, productos metabolizados, unión a receptor o moléculas). La tasa de transferencia de un compartimento a otro es proporcional a la concentración en el compartimento de origen y a la constante de transferencia. En general, un modelado compartimental es descrito por un sistema de ecuaciones, donde cada ecuación corresponde a la suma de todas las tasas de transferencia de un compartimento específico i:

$$\frac{d}{dt} C_i(t) = \sum_{j=1 \dots N} (k_{ij} C_j(t) - k_{ji} C_i(t))$$

Donde $C_i(t)$ es la concentración de radiofármaco en el compartimento i al tiempo t , N es el número de compartimentos en el modelo y k_{ij} es la tasa constante de transferencia al compartimento i del compartimento j .

Cuando la concentración del compuesto en un compartimento no cambia con el tiempo se dice que el compartimento llegó a un estado de equilibrio, y cuando todos los compartimentos llegan a ese estado se dice que el sistema ha alcanzado el estado de equilibrio.

En organismos vivos, la señal que se puede medir de una imagen PET en cierta región o tejido, no es señal debida solamente a la captación específica del radiofármaco en ese sitio; el radiofármaco puede transformarse en metabolitos marcados radioactivamente que interaccionan con el tejido de forma distinta a la del radiofármaco pero contribuye a la señal, además de la señal de interacciones del radiofármaco con sitios no específicos de unión o impurezas del radiofármaco; separar la señal de cada componente es el objetivo de los MC. Para ejemplificar la situación, supongamos que el plasma transfiere y recibe el

radiofármaco o algún metabolito de él al tejido; en este caso ocurren dos procesos distintos que pueden estudiarse como dos compartimentos: en el primer no existe captación específica del radiofármaco mientras que, en el segundo, se va acumulando (de forma específica) a lo largo del tiempo; la señal que podemos detectar en tejido de la imagen es la suma de los dos procesos (ver figura 3, izquierda). Para obtener las tasas de transferencia k_i entre estos compartimentos y plasma se realiza el MC, representado en la figura 3 del lado derecho.

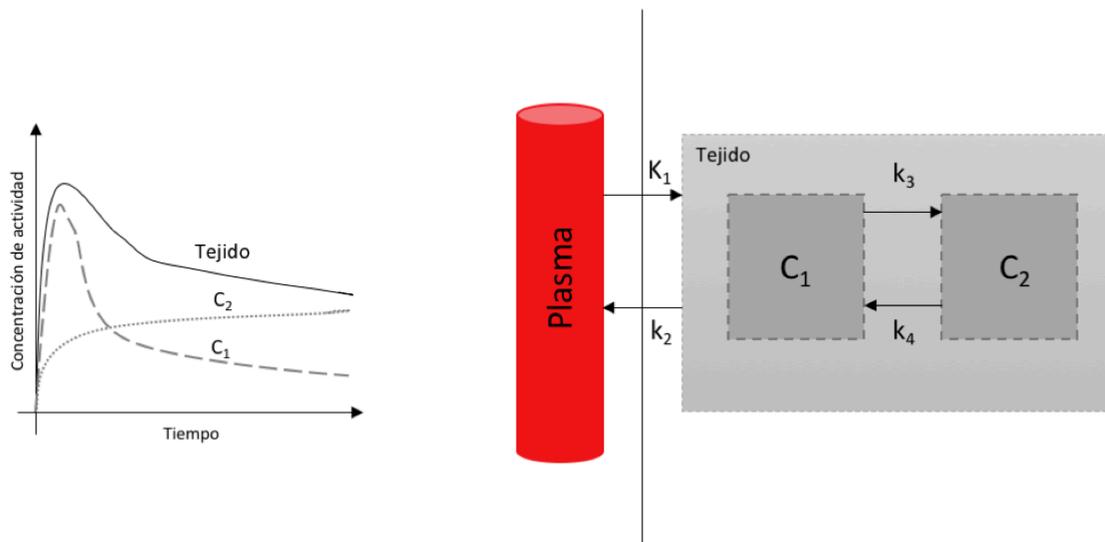


Figura 13. Señal obtenida de una imagen dinámica PET de la captación del radiofármaco en un tejido (línea continua) y su separación en dos señales (líneas discontinuas) provenientes de captación específica (C_2) e interacciones inespecíficas (C_1) y la representación esquemática de los dos compartimentos en un tejido de interés (C_1 y C_2) con las tasas de transferencia entre ellas y hacia/desde plasma (derecha).

El MC puede ser de dos tipos, compartimentos reversible o irreversible dependiendo de la captación de cada radiofármaco en cada tejido. El modelado irreversible es aquel que contiene al menos un compartimento que no tiene salida del radiofármaco mientras que el reversible no tiene ninguno (Figura 4).

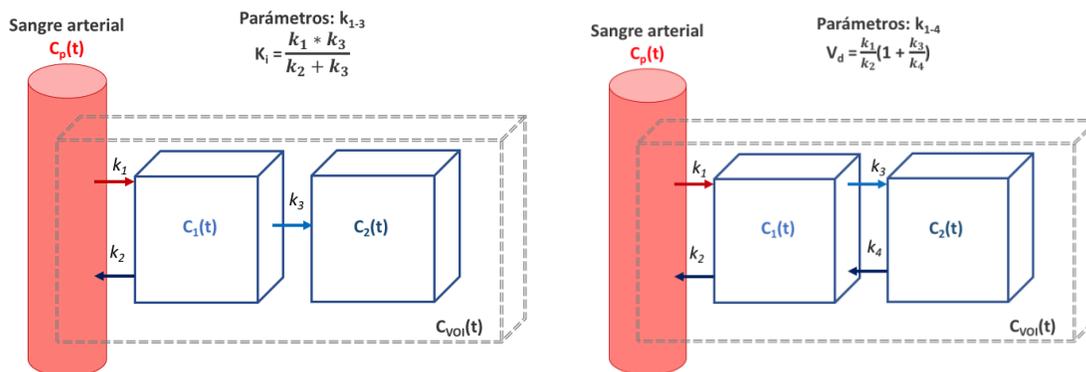


Figura 4. Representación gráfica de dos compartimentos. El modelo consiste en tres componentes, las cuales son expresadas a lo largo del tiempo como curvas de actividad, la función de entrada $C_p(t)$, consiste en sangre arterial. El compartimento $C_1(t)$ representa al radiofármaco no unido al tejido, mientras que $C_2(t)$, el unido. De lado izquierdo se representa la interacción irreversible y de lado derecho, un esquema de radiofármaco de cinética reversible. Adaptado de (Li et al., 2014).

Un factor que complica los procedimientos de cuantificación es la presencia de metabolitos radiactivos, estos metabolitos pueden ser originados en órganos periféricos como hígado, riñón, pulmón, etc. y regresarlos al torrente sanguíneo, contribuyendo a la señal que se obtiene en la imagen, por lo tanto, cuando se está investigando la farmacocinética de un nuevo radiofármaco o en una nueva especie es necesario dividir el plasma y sangre para el estudio de metabolitos.

Los parámetros obtenidos del modelado compartimental son llamados micro parámetros (k_i) los cuales no pueden ser determinados con un alto grado de precisión debido al ruido presente en los datos, por lo tanto, varios macro parámetros son usados usualmente como medida de salida; los macro parámetros son más robustos y pueden interpretarse fácilmente, para procesos reversibles éstos son el potencial de unión y el volumen de distribución.

El volumen de distribución total (V_T) se define como el cociente entre la concentración del radiofármaco en tejido y la que hay en plasma o el tejido de referencia en equilibrio; V_T es expresado en unidades de [ml/ml] o (mL/g).

El potencial de unión no desplazable (BP_{ND} , por sus siglas en inglés) es la principal medida en estudios de neuroreceptores, definido como:

$$BP_{ND} = \frac{V_T}{V_{ND}} - 1 = DVR - 1 \quad (1)$$

Donde V_{ND} es el volumen de distribución del compartimento no desplazable, relativo a la concentración total en plasma, el término V_T/V_{ND} es llamado tasa de volumen de distribución (DVR, por sus siglas en inglés). El BP_{ND} es una medida que indica que tan eficiente el radiofármaco se une de forma específica a su blanco. El cálculo de DVR no necesariamente requiere muestras de sangre, puede ser calculado usando una región de referencia sin unión específica del radiofármaco, simplificando la implementación de métodos cuantitativos derivados de información obtenida únicamente de las imágenes PET. Con este fin, diversos métodos de referencia han sido desarrollados para obtener valores cuantitativos, y a continuación, se muestra una breve descripción de algunos de ellos.

Métodos de tejido referencia

Distintos métodos han sido desarrollados para obtener el valor BP_{ND} utilizando modelos no invasivos mediante el uso de tejidos de referencia, algunos de ellos son: el modelo simplificado de tejido de referencia (SRTM, por siglas en inglés) (Gunn et al., 1997; Lammertsma et al., 1996), el método de tejido de referencia de Logan (LRTM, por sus siglas en inglés) derivado del método gráfico de Logan (Logan et al., 1996) y el modelo multilineal de tejido de referencia (MRTM, por sus siglas en inglés) de Ichise (Ichise et al., 2003, 1996).

El SRTM es una simplificación de un modelo previo que estimaba cuatro parámetros, reduciendo el modelo a tres parámetros asumiendo que el volumen fraccional en sangre es igual en el tejido de referencia y en el de interés, obteniendo la siguiente expresión:

$$C(t) = R_1 C'(t) + \left(k_2 - \frac{R_1 k_2}{1 + BP_{ND}} \right) C'(t) \otimes e^{\left(\frac{-k_2}{1 + BP_{ND}} t \right)} \quad (2)$$

Donde $C(t)$ y $C'(t)$ son las curvas de concentración de actividad vs tiempo en la región de interés y de referencia, respectivamente, R_1 es la tasa de transferencia en la región de

interés relativa a la región de referencia y k_2 es una tasa constante de eliminación del radiofármaco (Salinas et al., 2014). Los tres parámetros que se infieren de este modelo son: R_1 , k_2 , y BP_{ND} (Lammertsma and Hume, 1996).

El modelo LRTM, es una ecuación lineal de primer orden, donde se obtiene el valor DVR de la pendiente de la regresión lineal a un tiempo de equilibrio t^* , usando una región de referencia sin unión específica del radiofármaco (Logan et al., 1996) expresado en los siguientes términos:

$$\frac{\int_0^T C(t)dt}{C(T)} = DVR \frac{\int_0^T C'(t)dt}{C(T)} + b \quad (3)$$

donde b es la ordenada al origen de la regresión lineal, la cual es constante después de un tiempo de equilibrio t^* .

El MRTM original (llamado MRTMo) es una adaptación del método de Logan desarrollado para disminuir el error proveniente del ruido en las medidas, obteniendo la siguiente ecuación (Ichise et al., 1996):

$$\frac{\int_0^T C(t)dt}{C(T)} = \frac{V_T}{V_{ND}} \frac{\int_0^T C'(t)dt}{C(T)} + \frac{V_T}{V_{ND}k'_2} \frac{C(T)}{C(T)} + b \quad (4)$$

donde V_T y V_{ND} son los volúmenes de distribución correspondientes y k'_2 es la tasa constante de eliminación de la región de referencia al plasma. En esta ecuación, $DVR = V_T/V_{ND}$. El modelo MRTMo fue modificado a MRTM2 y usado para estimar el valor k'_2 (Ichise et al., 2003). Modificando la ecuación 4, y fijando k'_2 como constante, una versión de dos parámetros del modelo es obtenida:

$$C(T) = -\frac{V_T}{V_{ND}} \left(\int_0^T C'(t)dt + \frac{1}{k'_2} C'(t) \right) + \frac{1}{b} \int_0^T C(t)dt \quad (5)$$

Donde los dos parámetros a inferir son: $\gamma_1 = -\frac{V_T}{V_{ND}}$ y $\gamma_2 = \frac{1}{b}$. La tasa constante de eliminación (k'_2) en este modelo es estimada del MRTMo (Ichise et al., 2003). Debido a que MRTM2 estima un menor número de parámetros, se espera que sea un modelo más

robusto comparado con MRTMo, en especial en niveles altos de ruidos y en imágenes paramétricas a nivel voxel (Ichise et al., 2003).

Todos los modelos anteriores, asumen que existe una región de referencia sin unión específica del radiofármaco y que el volumen de distribución no desplazable es el mismo en la región de interés y en la de referencia.

Estos métodos requieren de la adquisición de datos dinámicos, de al menos una hora, empezando desde el momento de la administración del radiofármaco hasta que el sistema llega a un cierto estado de equilibrio. Lo anterior, limita su aplicación en estudios clínicos PET de rutina. En estos casos, cocientes de captación de imágenes estáticas, obtenidas cuando el radiofármaco alcanza un cierto estado de equilibrio, de una región específica entre una no específica, son usados como una medida de la captación del radiofármaco.

El poder de las imágenes moleculares PET radica en su capacidad de cuantificar los procesos bajo estudio. Sin embargo, en la práctica clínica diaria, las imágenes adquiridas de manera estática son comúnmente analizadas de manera visual-cualitativa o utilizando un índice semi-cuantitativo como el valor de captación estandarizado (SUV, por sus siglas en inglés). El valor SUV se define como la concentración de actividad en tejido (en MBq/kg o kBq/g) dividido entre la dosis inyectada (en MBq o kBq) y multiplicado por el peso del paciente (kg o g). El valor SUV no requiere de muestras de sangre y es útil para localizar donde se está metabolizando glucosa, donde se localiza un receptor, etc. El SUV es útil para localizar tumores, estados y monitorear eficiencias de un tratamiento, sin embargo, para comparar entre sujetos, el valor SUV no es robusto porque la captación del radiofármaco no es necesariamente lineal al peso del paciente y la concentración en plasma y el flujo sanguíneo es distinto entre sujetos.

Los métodos semicuantitativos carecen de utilidad para el análisis de imágenes obtenidas con radiofármacos dirigidos a receptores específicos, como los utilizados en aplicaciones neurológicas para el estudio de enfermedades degenerativas. Aprovechar al máximo el potencial diagnóstico de estos radiofármacos requiere de modelos que relacionen la cinética del marcador con el proceso fisiológico bajo estudio, permitiendo así una descripción de la interacción con el tejido en términos matemáticos para obtener ecuaciones operacionales formuladas basándose en las tasas absolutas de flujo, dando como resultado la estimación de un parámetro biológico de interés (Lammertsma, 2002).

Este trabajo se centra en el estudio de los distintos métodos usados comúnmente para obtener información cuantitativa de datos PET, cada capítulo muestra un método de análisis y nuevas propuestas para obtener la mayor información posible de estudios PET.

Capítulo 1

Comparación entre métodos de referencia cuantitativos para medir la reproducibilidad de valores de captación de ^{11}C -DTBZ en cuerpo estriado de rata: prueba re-prueba

Resumen

Introducción: la cuantificación de imágenes dopaminérgicas PET es de gran utilidad para determinar la integridad del sistema *in vivo* de forma no invasiva a nivel clínico y de investigación, y contar con métodos de cuantificación robustos es imperativo para comparar diferencias entre grupos. El **objetivo** de este trabajo fue evaluar la confiabilidad y reproducibilidad de diferentes métodos de referencia usados para determinar el potencial de unión del radiofármaco ^{11}C -DTBZ en el cuerpo estriado de cerebros de rata usando el cerebelo como región de referencia. **Hipótesis:** Los métodos de referencia usados para cuantificar la captación de ^{11}C -DTBZ en cuerpo estriado de rata son reproducibles. **Métodos:** se obtuvieron imágenes PET dinámicas de 65 minutos de 8 ratas hembras sanas a las 12 y 20 semanas de edad, usando una dosis de 37 ± 10 MBq de ^{11}C -DTBZ en cada estudio. Para obtener el potencial de unión se utilizaron los siguientes métodos de referencia: LRTM, MRTMo, MRTM2 y SRTM, además del cociente estriado-cerebelo de imágenes estática sumadas del minuto 30 al 65. La reproducibilidad entre los dos estudios (prueba y re-prueba) se midió usando el coeficiente de correlación interclase (ICC, por sus siglas en inglés) y el índice de variabilidad. **Resultados:** el ICC medido fue de 0.66 para las imágenes estáticas mientras que para MRTM2 fue de 0.98, la variabilidad fue de 12.26% para imágenes estáticas y 3.28% para MRTM2, sugiriendo que este es el mejor método para evaluar este tipo de estudios. **Conclusiones:** en estudios ^{11}C -DTBZ-PET longitudinales es necesario la implementación de métodos cuantitativos, sobre todo en estudios donde se requiere estudiar cambios del mismo sujeto a lo largo del

tiempo para detectar variaciones debido a cambios fisiológicos y no al método utilizado para medirlos. **Pregunta de Investigación:** ¿Es posible obtener medidas reproducibles de la captación del radiofármaco ^{11}C -DTBZ en cuerpo estriado de rata usando métodos de referencia?

Introducción

La enfermedad de Parkinson es la segunda enfermedad neurodegenerativa más común, después del Alzheimer, y afecta alrededor de 6.3 millones de personas en el mundo; la Organización Mundial de la Salud estima que para el 2030 llegarán a ser más de 12 millones debido al crecimiento poblacional y al aumento de la esperanza de vida. Actualmente, la enfermedad afecta a 1 de cada 100 personas mayores de 60 años.

Debido a que aún no existe una cura para la enfermedad, muchos centros de investigación realizan esfuerzos enfocados en nuevos tratamientos que requieren ser probados con métodos eficaces de diagnóstico, es aquí donde métodos no invasivos de imagen molecular del sistema dopaminérgico juegan un papel importante.

Muchas de los nuevos tratamientos son probados usando modelos animales de la enfermedad antes de ser implementados en humanos, una forma no invasiva de evaluar su eficacia es mediante la imagenología PET, técnica que permite evaluar en varias ocasiones al mismo sujeto sin alterar su estado fisiológico y sin tener que sacrificar al animal.

Como todos los métodos de medición, los métodos usados para cuantificar en PET tienen una variabilidad proveniente de distintas fuentes de ruido. Elegir un método que presente la menor variabilidad es necesario cuando se requieren medidas obtenidas con estas técnicas para detectar cambios debido al tratamiento o al grupo y no al método de análisis.

Distintos radiofármacos PET han sido desarrollados para el estudio *in vivo* de la vía dopaminérgica (Stoessl, 2007; Verhoeff, 1999), permitiendo determinar y seguir la evolución de las enfermedades implicadas con esta vía (la figura 1.1 muestra los radiofármacos producidos en la Unidad Radiofarmacia-Ciclotrón de la Facultad de

Medicina de la UNAM). Algunos de los radiofármacos usados con ese fin en neuronas pre-sinápticas son: ^{18}F -DOPA (Cumming et al., 1993; Leenders et al., 1990; Wahl and Nahmias, 1996) precursor de la dopamina, L-[3-(^{18}F)-alpha-methyl tyrosine (^{18}F -FMT), precursor de tiramina (Barrio et al., 1996) y -(+)-Dihydrotrabenzazine (DTBZ) con alta afinidad por la vesícula transportadora de monoaminas tipo 2 en cuerpo estriado (DaSilva and Kilbourn, 1992; Tong et al., 2011). Algunos ejemplos de radiofármacos comúnmente usados para marcar neuronas post-sinápticas son: ^{11}C -raclopride (Endres et al., 1997; Ishibashi et al., 2010; A. A. Lammertsma et al., 1996), con alta afinidad por receptores tipo D2 y D3, 8-chloro-2,3,4,5-tetrahydro-3-methyl-5-phenyl-1-H-3-benzodiazepine-7-01 (^{11}C -SCH23390 (DeJesus et al., 1987; Farde et al., 1987) antagonista de receptores D1, ^{11}C -NNC112) (Cannon et al., 2009; Slifstein et al., 2007), también antagonista a receptores D1 y ^{18}F -Fallypride (Dunn et al., 2013; Jenny Ceccarini Michel Koole, Tom Muylle, Guy Bormans, Stephan Claes, Koen Van Laere, 2012; Mukherjee et al., 2015) antagonista a receptores D2 Y D3. Los radiofármacos pre-sinápticos tendrán una menor captación cuando existen alteraciones en la vía dopaminérgica mientras que los receptores post-sinápticos, aumentará su captación debido a la disminución de dopamina endógena.

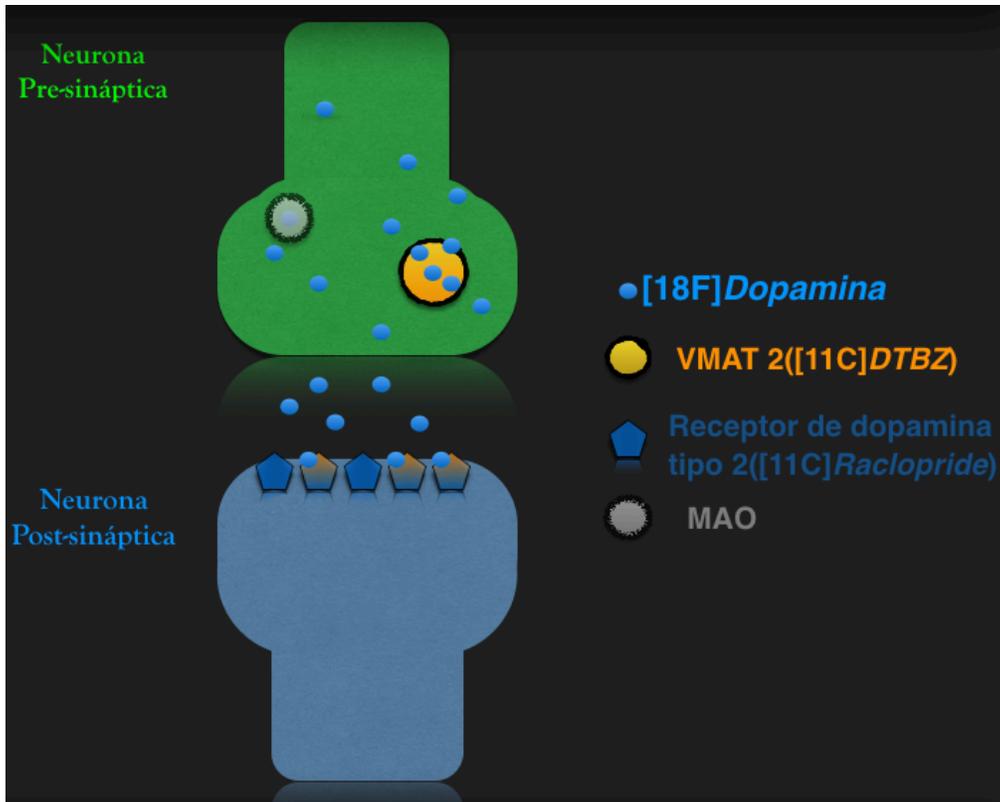


Figura 1.1. Esquema de los sitios de captación de los tres radiofármacos utilizados para el estudio de la vía dopaminérgica producidos en la Unidad Radiofarmacia-Ciclotrón de la Facultad de Medicina de la UNAM.

Imágenes cerebrales PET obtenidas con el radiofármaco (+)- α -[11C]dihidotetrabenazine (^{11}C -DTBZ) son usadas frecuentemente como indicadores de la integridad dopaminérgica pre-sináptica (DaSilva and Kilbourn, 1992; Stoessl, 2007); es un radiofármaco con alta afinidad por la vesícula transportadora de monoaminas tipo 2 (VMAT2) en cuerpo estriado (DaSilva and Kilbourn, 1992), útil para detectar cambios en el sistema dopaminérgico. Para obtener de manera precisa y confiable esos cambios, es necesario implementar métodos cuantitativos.

Un valor cuantitativo frecuentemente usado en PET es el potencial de unión no desplazable (BP_{ND}) (Innis et al., 2007) :

$$\text{BP}_{\text{ND}} = \frac{V_{\text{T}}}{V_{\text{ND}}} - 1 = \text{DVR} - 1 \quad (1)$$

Donde V_T es el volumen de distribución de la captación total del ligando en el tejido y V_{ND} es el volumen de distribución del compartimento no desplazable, $\frac{V_T}{V_{ND}}$ se define como tasa de volumen de distribución (DVR, por sus siglas en inglés). El BP_{ND} es una medida que refleja un cociente entre la densidad del blanco molecular y la constante de disociación del radiofármaco por el blanco, dando una métrica de la afinidad específica del radiofármaco por el blanco molecular, si este valor es cero o cercano a él, indica que el radiofármaco no tiene afinidad por el tejido estudiado.

Los modelos animales de la enfermedad de Parkinson, sobre todo en ratas con neuronas dopaminérgicas dañadas químicamente, son de los más usados a nivel preclínico para evaluar nuevas drogas y tratamientos. Métodos para obtener medidas confiables y repetibles para evaluar esas evaluaciones preclínicas son necesarios, por tal motivo, el objetivo de este trabajo fue determinar la variabilidad de distintos métodos cuantitativos desarrollados para ese fin en ratas sanas en un periodo de dos meses mediante medidas de prueba y re-prueba.

Materiales y Métodos

Animales

Ocho ratas Wistar hembra de 12 semanas de edad (217 ± 21 g) fueron usadas en este trabajo. Las ratas fueron alojadas en un cuarto a temperatura de 22 ± 2 °C con un ciclo de 12 horas de luz por 12 de oscuridad, y disponibilidad de comida y agua *ad libitum*. Todos los experimentos fueron realizados siguiendo las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio estipulados en la Norma Oficial Mexicana NOM 0062-ZOO-1999 y siguiendo los procedimientos experimentales aprobados por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la UNAM.

Adquisición de imágenes

Se obtuvieron dos tomografías con ^{11}C -DTBZ de cada rata separadas por un periodo de dos meses en el microPET Focus 120 (Siemens/CTI, Knoxville, TN, USA) de la Facultad de Medicina de la UNAM. El radiofármaco fue administrado de forma intravenosa en un solo bolo en la vena de la cola (37 ± 10 MBq) con la rata bajo anestesia gaseosa inducida con 5% de isoflurano y mantenida durante todo el estudio a 2-3% (figura 1.2). Las imágenes cerebrales fueron adquiridas durante 65 minutos desde el momento de la inyección. Los signos vitales fueron vigilados y controlados continuamente durante el estudio (temperatura, frecuencia cardiaca y respiratoria). Los datos fueron reconstruidos usando un algoritmo de reconstrucción 2D OSEM (2D-ordered subsets expectation maximization) en una matriz de 128×128 pixeles (tamaño de pixel: 0.86 mm por lado y 0.76 mm de grosor) y 95 cortes en 90 imágenes sucesivas con los siguientes tiempos: $36 \times 15\text{s}$, $18 \times 20\text{s}$, $20 \times 30\text{s}$, $10 \times 60\text{s}$, y 6×5 m. Las imágenes fueron corregidas por tiempo muerto de detectores, eventos aleatorios y dispersados; no fueron corregidas por atenuación.



Figura 1.2. MicroPET (izquierda) y posicionamiento de la rata anestesiada (derecha).

Procesamiento de imagen

El procesamiento de las imágenes se realizó usando el software PMOD (v. 3.7, PMOD Technologies LLC). Las imágenes fueron corregidas por movimiento, haciendo un corrección de las imágenes de cada estudio a la última imagen de 5 minutos, y suavizadas usando un filtro gaussiano 3D de $1 \times 1 \times 1$ mm. Los volúmenes de interés (VOI, por sus siglas en inglés) fueron obtenidos delineando manualmente una esfera de 2 mm de radio, centradas en las estructuras de interés (cuerpo estriado y cerebelo). Los VOIs fueron propagados en cada estudio para obtener curvas de actividad contra tiempo.

El análisis de los datos fue realizado usando los modelos SRTM, LRTM, MRTMo y MRTM2 implementados en el software PMOD. Con fines de comparación, imágenes estáticas de 30 minutos fueron generadas sumando los últimos 30 minutos de cada estudio (35-65 min) con el fin de calcular el cociente estriado/cerebelo, valor usado usualmente en investigación clínica.

Análisis estadístico

La variabilidad (VAR (%)) fue calculada como sigue:

$$\text{VAR} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{2\|\text{Test}_i - \text{reTest}_i\|}{\text{Test}_i + \text{reTest}_i} * 100$$

La reproducibilidad fue medida con el coeficiente de correlación interclase (ICC) y su intervalo de confianza al 95% usando el software Real Statistics Resource Pack software (Release 4.3). Copyright (2013 – 2015) Charles Zaiontz. www.real-statistics.com:

$$\text{ICC} = \frac{E - I}{E + I}$$

Donde E, es la suma promedio de cuadrados entre sujetos e I es la suma promedio de cuadrados inter sujetos, este coeficiente estima la confiabilidad de las medidas en un rango de -1 (no confiable) a 1 (confiabilidad máxima) (Parsey et al., 2000).

Se realizó un análisis de regresión de Pearson usando GraphPad Prism 6.0 (GraphPad Software).

Resultados

En la figura 1.3, se muestran imágenes típicas de un estudio dinámico de cerebro de rata de 65 minutos de duración junto con una gráfica típica de actividad vs tiempo obtenida de las VOIs (cerebelo y estriado) a los distintos tiempos de adquisición.

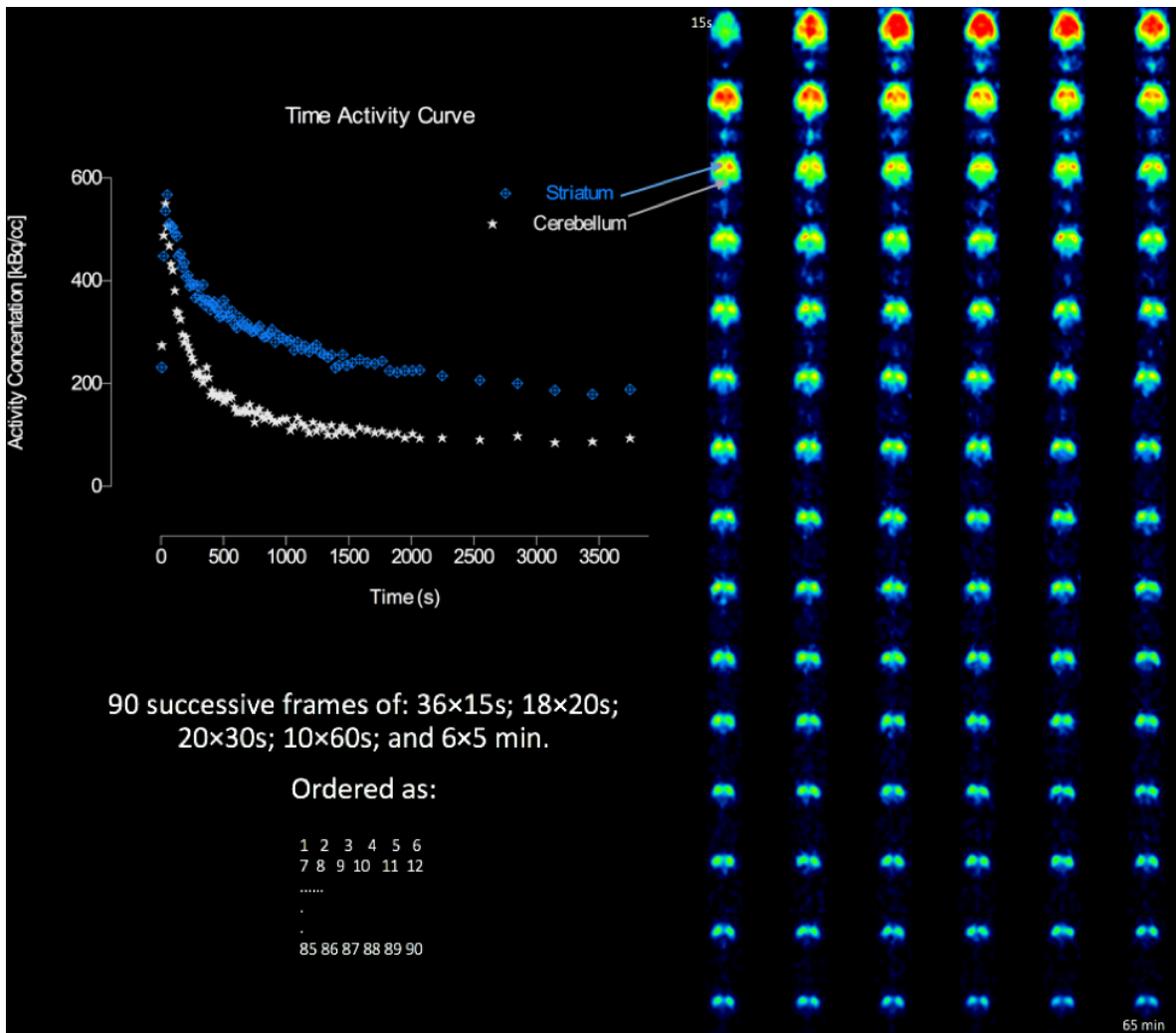


Figura 1.3. Curva de actividad vs tiempo en cuerpo estriado (cruces) y cerebelo (estrellas), usado como región de referencia e imágenes dinámicas a los distintos tiempos.

Los valores promedio de BP_{ND} de ^{11}C -DTBZ en el cuerpo estriado de las ratas obtenidos en los dos estudios con los distintos métodos son presentados en la tabla 1.1 La tabla muestra el BP_{ND} promedio, la variabilidad, el ICC y su rango de confianza al 95%.

Tabla 1.1 Variabilidad, ICC y BP_{ND} promedio (n=8) y desviación estándar de la captación de ¹¹C-DTBZ en cuerpo estriado.

	SRTM	MRTM ₀	MRTM ₂	LRTM	(Estriado/cerebelo-1) ₃₅₋₆₅
BP _{ND} promedio Prueba	1.10(0.22)	1.18(0.19)	1.21(0.19)	1.26(0.24)	1.40(0.16)
BP _{ND} promedio Re-prueba	1.12(0.26)	1.23(0.20)	1.21(0.23)	1.26(0.20)	1.37(0.26)
Variabilidad	4.46%	5.10%	3.28%	7.44%	12.26%
ICC	0.91[0.55-0.99]	0.93[0.66-0.99]	0.98[0.90-1.0]	0.83[0.13-0.97]	0.66[-0.1-0.94]

Los valores promedio de BP_{ND} varían de 1.10 a 1.26 con una variabilidad de entre 3.28% a 7.44% dependiendo del método. Los índices de confiabilidad para los métodos de referencia cuantitativos mostraron una buena reproducibilidad, mientras que el método del cociente es el que presenta menor reproducibilidad y mayor variabilidad.

Aunque los diferentes métodos tienen distinta precisión, las imágenes paramétricas en términos de BP_{ND} obtenidas con cada uno de ellos nos da información visual similar (figura 1.4), excepto por la imagen del cociente (SCR-1) que es más afectada por el ruido alrededor de la región de interés.

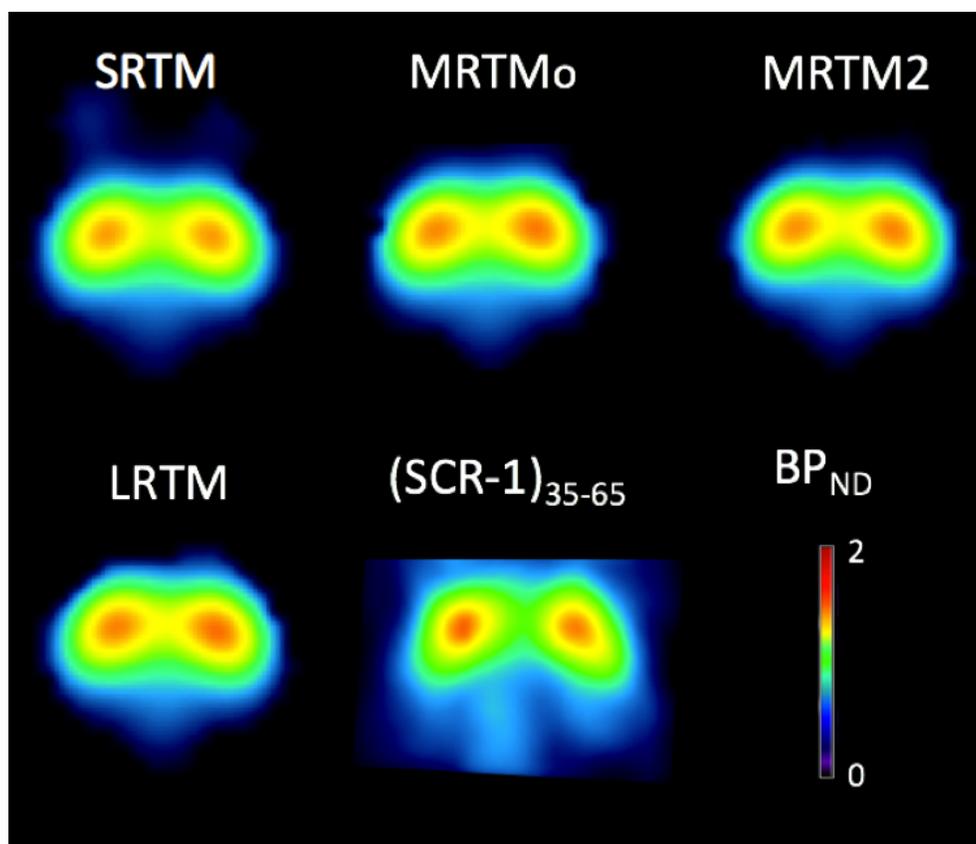


Figura 1.4. Imágenes paramétricas de captación de ¹¹C-DTBZ en estriado de ratas sanas en un corte transversal usando distintos métodos de cuantificación.

Se realizó una regresión lineal y un análisis de Pearson para comparar los valores BP_{ND} de prueba y re-prueba para cada rata. El análisis mostró que los métodos SRTM y MRTM son los métodos más precisos para evaluar estudios longitudinales mientras que el método de cociente mostró mayores diferencias entre las pruebas (ver figura 1.5).

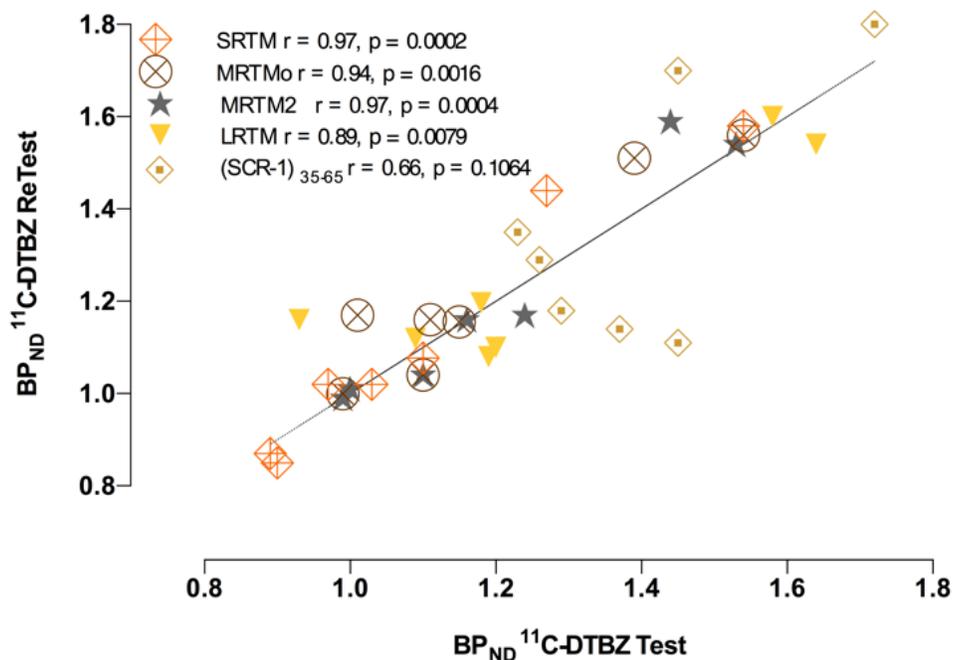


Figura 1.5. Captación de ^{11}C -DTBZ en el estriado de ratas sanas a los 3 meses (test) comparado con la captación a los 5 meses (re-test) usando distintos métodos cuantitativos.

En la figura 1.5 se puede observar que los métodos SRTM y MRTM dan valores “r” similares ($r > 0.94-0.97$), sugiriendo que son los mejores métodos en estudios longitudinales comparados con LRTM ($r = 0.89$) y SCR ($r = 0.66$); los valores p, corresponden al análisis de Pearson.

El método MRTM2 mostró la menor variabilidad (3.28%) y mejor valor ICC (0.98) comparado con los demás métodos.

Discusión

En este trabajo, se evaluó la reproducibilidad de medidas de captación de ^{11}C -DTBZ en cerebro de ratas sanas, usando distintos métodos de análisis cuantitativos. La confiabilidad en la cuantificación por métodos de referencia no invasivos fue analizada para comparar estudios longitudinales, se encontraron excelentes valores de reproducibilidad para los métodos SRTM, MRTMo y MRTM2, mientras que LRTM tuvo valores aceptables y el método de los cocientes presentó la mayor variabilidad. Los resultados muestran que medidas cuantitativas de BP_{ND} son una medida confiable y reproducible para dar seguimiento, de forma no invasiva la captación del radiofármaco en estudios longitudinales.

También se demostró que la captación de ^{11}C -DTBZ en ratas jóvenes (2-4 meses) no cambia, haciendo estos métodos cuantitativos ideales para medir entre grupos, permitiendo así, comparar grupos tratados y controles en estudios longitudinales con pequeñas variaciones debido al método de cuantificación.

Este trabajo está en concordancia con otros estudios PET cerebrales en roedores, humanos y primates que han mostrado que la variabilidad de prueba y re-prueba usando diversos radiofármacos está en un rango del 5% al 10% (Lammertsma, 2017), algunos radiofármacos reportados son: ^{11}C -SCH23390 (Kaller et al., 2017), ^{11}C -Cimbi-36 y ^{18}F -altanserin (Ettrup et al., 2016), ^{11}C -raclopride (Alakurtti et al., 2015), ^{11}C -flumazenil (Salmi et al., 2008), ^{18}F -Fallypride (Dunn et al., 2013) y ^{18}F -DOPA (Egerton et al., 2010).

Se ha mostrado que los dos métodos que mostraron mejores índices de reproducibilidad en este trabajo (MRTM2 y SRTM) son mejores comparados con otros métodos. En estudios previos, usando ^{11}C -DASB, se mostró que el método MRTM2 tiene menor variabilidad que el método MRTMo (Kim et al., 2006), mientras que el método SRTM también ha mostrado ser un método robusto para estimar valores de BP_{ND} , como se muestra en los trabajos con ^{11}C -SCH 23390, ^{11}C -raclopride y ^{11}C -RTI-121 (Lammertsma and Hume, 1996).

Un estudio previo de la reproducibilidad del valor DVR en humanos usando ^{11}C -DTBZ comparó el método de Logan usando muestras de sangre y una región de referencia (G.

L. Y. Chan et al., 1999); se encontró que en la cuantificación con muestras de sangre se obtienen peores índices de reproducibilidad que usando regiones de referencia. Lo anterior puede parecer contradictorio porque el uso de datos obtenidos de plasma permite una cuantificación absoluta, sin embargo, al tomar muestras el método se hace más susceptible a errores de medición haciendo el método más impreciso, además de las dificultades técnicas que conlleva debido a que es limitada la cantidad de sangre que puede extraerse de un paciente así como el número de veces que puede hacerse durante el estudio, la separación en metabolitos y la cuantificación radiactiva de cada uno de ellos. Por esa razón, los métodos de referencia son una excelente alternativa para obtener valores confiables para cuantificar radiofármacos PET con farmacocinética reversible.

Aunque el método de cocientes (estriado/cerebelo) no es el más preciso, su uso es preferible en lugar del valor SUV (Standardized Uptake Value), valor usado ampliamente en clínica para cualquier tipo de radiofármaco. Con fines ilustrativos, en este trabajo se calculó el valor SUV de imágenes estáticas sumadas del minuto 35 al 65, aplicando los mismos análisis de reproducibilidad realizados a los demás métodos. Se obtuvo una variabilidad >31%, comparada con la variabilidad obtenida con los demás métodos <12.5%, lo cual convierte al SUV en una medida inaceptable para comparar este tipo de estudios. El SUV es usado comúnmente a nivel clínico y aunque ha mostrado su utilidad en cierto tipo de estudios (sobre todo oncológicos, usando ^{18}F FDG), es un valor que hay que evitar cuando se usan radiofármacos con cinética reversible; además el SUV es afectado por distintas variables físicas, técnicas, y biológicas (L. Zuñiga-Meneses, 2014) que son reducidas o eliminadas cuando se utilizan métodos de referencia. Sin embargo, también es cierto que el uso de métodos de cociente usando una región de referencia elimina errores que se encuentran en el SUV debido a que los cocientes son independientes del peso, dosis inyectada, atenuación, por mencionar solo algunos.

Muchos proyectos de investigación requieren evaluar la eficacia de nuevos tratamientos, la técnica PET es capaz de detectar y cuantificar procesos relacionados con la eficacia de dichos tratamientos de forma no invasiva, convirtiendo a la técnica en una herramienta de gran utilidad para dar seguimiento a los sujetos bajo estudio. Por lo anterior, contar con métodos cuantitativos que aporten información confiable y reproducible es necesario para aprovechar el máximo potencial de esta técnica de diagnóstico médico por imagen.

En este trabajo se estudiaron por primera vez imágenes longitudinales de ^{11}C -DTBZ en rata usando métodos de referencia, se mostró que la cuantificación con estos métodos es confiable para comparar estudios de este tipo.

Conclusiones

Distintos métodos pueden ser utilizados para estimar el valor BP_{ND} empleando ^{11}C -DTBZ, dependiendo del método, se pueden obtener valores con diferente grado de confiabilidad y reproducibilidad, elegir un método adecuado es esencial para obtener datos confiables y reproducibles. En este trabajo se encontró que los métodos MRTM2 y SRTM tienen los mejores índices de repetitividad y precisión seguidos del MRTM0 para evaluar la captación en estriado de ratas en un periodo de dos meses. El método LRTM mostró resultados aceptables con variabilidad $>10\%$. Finalmente, el método de cocientes usando el cerebelo como referencia da la menor precisión, aun así, es mejor usar este método que el SUV para comparar estudios inter o intra-sujetos.

Productos de investigación:

Artículo en revista internacional especializada:

Avendaño-Estrada A, Avila-Rodríguez MA. Reference tissue models in the assessment of ^{11}C -DTBZ binding to the VMAT2 in rat striatum: A test-retest reproducibility study. Synapse. 2018; e22029. <https://doi.org/10.1002/syn.22029>

Memoria in extenso:

A. Avendaño-Estrada, V. M. Lara-Camacho, M. C. Ávila-García, M. A. Ávila-Rodríguez, Reproducibility of quantitative measures of binding potential in rat striatum: A test re-test study using DTBZ dynamic PET studies, AIP C.P. 1626 110-113 (2014). <https://doi.org/10.1063/1.490137>

Presentación de carteles en congresos nacionales e internacionales:

XII Mexican Symposium on Medical Physics. Poster: "Reproducibility of quantitative measures of binding potential in rat striatum, a test re-test study using DTBZ dynamic PET

studies” Sociedad mexicana de Física, División de Física Médica. León, Guanajuato, 2014.

Society for Neurosciences Annual Meeting: “Optimization and reliability of Logan graphical analysis to gauge binding potential of [11]C-DTBZ in rat striatum using dynamical positron emission tomography”. (2014) Washington DC.

XIV Reunión de Neuroimágen. Poster: “Acquisition time of dynamical PET studies” Centro de Investigación en Matemáticas. (2014) Guanajuato, Guanajuato.

Capítulo 2

Obtención del valor DVR de estudios dinámicos ^{11}C -DTBZ PET usando tiempos cortos de adquisición y el método de Logan modificado

"It is a capital mistake to theorize before you have all the evidence. It biases the judgment."

Arthur Conan Doyle

Resumen

Aunque los métodos de referencia son muy útiles para cuantificar datos PET, tienen la desventaja de requerir imágenes dinámicas adquiridas durante más de una hora, complicando su implementación en la clínica. Por tal motivo, en los últimos años se han hecho esfuerzos para validar medidas obtenidas de imágenes estáticas o dinámicas en tiempos cortos de adquisición que correlacionen con aquellas obtenidas de un estudio dinámico convencional. **Hipótesis:** Usando datos PET de corta duración, es posible la cuantificación confiable de una imagen dinámica. **Objetivo:** Desarrollar un método cuantitativo para estimar la tasa de volumen de distribución (DVR, por sus siglas en inglés) de datos PET dinámicos menores a una hora usando el modelo de referencia de Logan, sustentando las bases teóricas para describir y corregir el valor DVR usando tiempos cortos de adquisición. **Métodos:** Se utilizaron imágenes de 10 ratas sanas y de 10 ratas lesionadas unilateralmente con 6-OHDA. Las imágenes fueron adquiridas en modo dinámico durante 65 minutos desde el momento de la inyección de ^{11}C -DTBZ (10-34 MBq). Como prueba de principio, se analizaron imágenes previamente adquiridas de 3 pacientes con Parkinson y dos controles sanos. Se estimó el valor DVR en estriado de los animales y el putamen de humanos usando el método de Logan. De las mismas imágenes, se fueron reduciendo los datos, quitando las primeras imágenes a los siguientes tiempos: $t'=10, 20, 30$ y 50 minutos post inyección, simulando tiempos cortos de adquisición obteniendo valores DVR' a los distintos tiempos. Se utilizó un factor Φ para inferir el valor $\text{DVR} = \Phi\text{DVR}'$. **Resultados:** El modelo teórico predice una sobreestimación del valor DVR al reducirse el tiempo de adquisición en imágenes obtenidas tiempo después de la inyección, que fue confirmada con los datos experimentales. Un análisis de Bland-Almand del valor $\text{DVR} = \Phi\text{DVR}'$ obtenido de la aproximación, comparado con el DVR original, muestra una excelente correlación entre medidas, con un error menor al

0.5% para animales y del orden del 2-3% para humanos. **Conclusiones:** el método propuesto provee una manera confiable de estimar valores DVR para estudios cortos usando imágenes dinámicas adquiridas tiempo después de la inyección, ahorrando tiempo de adquisición. **Pregunta de investigación:** ¿Es posible obtener medidas cuantitativas confiables de datos dinámicos PET en menor tiempo al convencional?

Introducción

Los métodos gráficos son ampliamente usados para cuantificar imágenes PET obtenidas con radiofármacos con captación reversible e irreversible, debido a la simplicidad de su implementación (Logan et al., 1990; Patlak and Blasberg, 1985), permitiendo obtener información fisiológica por medio de la obtención de valores como el DVR o tasa de captación K_i (Koepp et al., 1997). Estos métodos se pueden implementar usando como función de entrada, información obtenida de muestras de sangre o usando curvas de actividad contra tiempo de una región de referencia sin captación específica (Logan et al., 1996). Estos métodos requieren de tiempos de adquisición dinámica (>1h) comenzando desde el tiempo de administración del radiofármaco hasta que el radiofármaco alcanza un cierto estado de equilibrio; Sin embargo, muchas veces no es posible adquirir las imágenes con estos protocolos comprometiendo la precisión de la cuantificación.

El análisis de referencia de Logan es un método práctico y eficiente para cuantificar datos PET sin la necesidad de muestras de sangre. Este método requiere datos dinámicos adquiridos desde el momento de la administración del radiofármaco ($t=0$) hasta un tiempo T. Además, requiere de las curvas de captación a lo largo del tiempo en la región de interés y una región de referencia sin captación específica. El método gráfico está descrito por la siguiente ecuación:

$$\frac{\int_0^T C_{ROI}(t)dt}{C_{ROI}(T)} = DVR \frac{\int_0^T C_{ref}(t)dt}{C_{ROI}(T)} + Const. \quad (1)$$

donde C_{ROI} es la concentración de actividad en la región de interés y C_{ref} lo es en el tejido de referencia. A cierto tiempo t^* , la gráfica es lineal y la pendiente de la parte lineal corresponde al valor DVR.

Consideremos un caso idealizado donde la gráfica es lineal, haciendo la constante = 0, se obtiene:

$$DVR = \frac{\int_0^T C_{ROI}(t)dt}{\int_0^T C_{ref}(t)dt} \quad (2)$$

Ahora, consideremos una versión modificada del método de Logan suponiendo que la adquisición no inicia desde un tiempo $t=0$, sino desde un tiempo $t'>0$, se tiene:

$$\frac{\int_{t'}^T C_{ROI}(t)dt}{C_{ROI}(T)} = DVR' \frac{\int_{t'}^T C_{ref}(t)dt}{C_{ROI}(T)} \quad (3)$$

De manera análoga a la ecuación (2):

$$DVR' = \frac{\int_{t'}^T C_{ROI}(t)dt}{\int_{t'}^T C_{ref}(t)dt} \quad (4)$$

El valor DVR' será calculado usando datos dinámicos obtenidos desde un tiempo t' , prescindiendo del tiempo entre $t=0$ y t' .

Por propiedades de la integral definida, la ecuación (2) puede ser reescrita como:

$$DVR = \frac{\int_0^{t'} C_{ROI}(t)dt + \int_{t'}^T C_{ROI}(t)dt}{\int_0^{t'} C_{ref}(t)dt + \int_{t'}^T C_{ref}(t)dt} \quad (5)$$

$$= \frac{\int_0^{t'} C_{ROI}(t)dt}{\int_0^{t'} C_{ref}(t)dt + \int_{t'}^T C_{ref}(t)dt} + \frac{\int_{t'}^T C_{ROI}(t)dt}{\int_0^{t'} C_{ref}(t)dt + \int_{t'}^T C_{ref}(t)dt} \quad (6)$$

$$< \frac{\int_0^{t'} C_{ROI}(t)dt}{\int_0^{t'} C_{ref}(t)dt + \int_{t'}^T C_{ref}(t)dt} + \frac{\int_{t'}^T C_{ROI}(t)dt}{\int_{t'}^T C_{ref}(t)dt} \quad (7)$$

combinando (7) con la ecuación (4), tenemos:

$$DVR < \frac{\int_0^{t'} C_{ROI}(t)dt}{\int_0^{t'} C_{ref}(t)dt + \int_{t'}^T C_{ref}(t)dt} + DVR' \quad (8)$$

De la ecuación anterior, se infiere que $DVR < DVR'$ pues el primer término de la derecha es estrictamente positivo y DVR' tiende a DVR cuando t' tiende a cero.

Dada la sobreestimación del valor DVR' comparado con los datos obtenidos de la adquisición dinámica desde cero, es posible obtener un factor que permita estimar el valor de DVR usando DVR' :

$$DVR = \Phi DVR' \quad (9)$$

Con $\Phi \leq 1$. Φ debe ser estimado de datos empíricos para cada especie y cada situación (salud o enfermedad), este valor será una constante si DVR' es constante a lo largo del tiempo, de lo contrario, DVR' estará determinada por una función que depende el tiempo t' dada por $\Phi(t')$:

$$\Phi(t') = \frac{1}{2}(1 + e^{-\alpha t'}) \quad (10)$$

Donde α es un parámetro obtenido de una regresión no lineal de valores DVR' experimentales. La constante 0.5 fue acoplada a la ec. 10, para obtener $\Phi(0) = 1$.

Materiales y Métodos

Todos los experimentos fueron realizados siguiendo las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio estipulados en la Norma Oficial Mexicana NOM 0062-ZOO-1999 y siguiendo los procedimientos experimentales aprobados por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la UNAM y del Instituto de Fisiología Celular (procedimiento quirúrgico). Los estudios con humanos se realizaron en la Unidad PET/CT de la Facultad de Medicina de la UNAM, aprobados por el Comité de Ética, y cada sujeto firmo un documento de consentimiento informado.

Sujetos y lesión 6-OHDA

El estudio con animales se hizo con ratas Wistar adultas de al menos dos meses de edad (230–250g). Durante el estudio, las ratas estuvieron en un ciclo de 12 horas de luz-oscuridad en un cuarto a temperatura de 22 ± 2 °C con acceso a agua y comida *ad*

libitum. Se hizo el estudio con 10 ratas control sanas y 10 ratas lesionadas unilateralmente con 6-OHDA (6- hydroxydopamine). La lesión con (6-OHDA) fue realizada en el Instituto de Fisiología Celular siguiendo un método previamente establecido (Diaz-Martinez et al., 2013). En resumen, las ratas anestesiadas (0.5–1.5% sevoflurano) fueron inyectadas con 8 µg of 6-OHDA (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) en el haz del prosencéfalo medio izquierdo con las siguientes coordenadas estereotáxicas relativas a bregma: anteroposterior (AP), -1.0 mm; lateral (L), 1.5 mm; ventral (V), -7.5 mm. Un mes después de la inyección, rotaciones inducidas por apomorfina (1 mg/kg) fueron cuantificadas durante una hora, los animales fueron seleccionados como lesionados cuando tenían más de siete rotaciones contralaterales por minuto.

Adquisición de la imagen PET

A las ratas se les administró vía intravenosa ¹¹C-DTBZ (10-34 MBq), siguiendo un protocolo de adquisición de imágenes dinámico durante 65 minutos desde el momento de inyección (t=0) (36x15s, 18x20s, 20x30s, 10x60s, 6x300s) con las ratas bajo anestesia gaseosa (2-3% isoflurano) en el MicroPET Focus 120 (Concorde Microsystems) de la Facultad de Medicina de la UNAM. Los signos vitales fueron vigilados continuamente: respiración, frecuencia cardíaca y temperatura.

Cada imagen fue usada para obtener curvas de actividad vs tiempo de cada animal.

Pre-procesamiento de los datos

Los datos adquiridos fueron adquiridos usando un algoritmo 2D-OSEM (2D-ordered subsets expectation maximization) en una matriz de 128 x 128 pixeles (tamaño de pixel: 0.86 mm por lado y 0.76 mm de grosor). Los datos fueron corregidos por tiempo muerto de los detectores y eventos dispersados y aleatorios. Las imágenes no fueron corregidas por atenuación.

Usando el software PMOD 3.7, se realizó un realineado de las imágenes, un suavizado FWHM (Full Width at Half Maximum) gaussiano de 2 mm, y las imágenes fueron corregistradas a un espacio estándar de atlas de resonancia magnética (ver figura 2.1) de rata de alta resolución (Valdes-Hernandez et al. 2011) implementado en el software PMOD.

Se dibujó una esfera de 2 mm de radio en estriado derecho como región de interés y otra igual en cerebelo como región de referencia para cada rata.

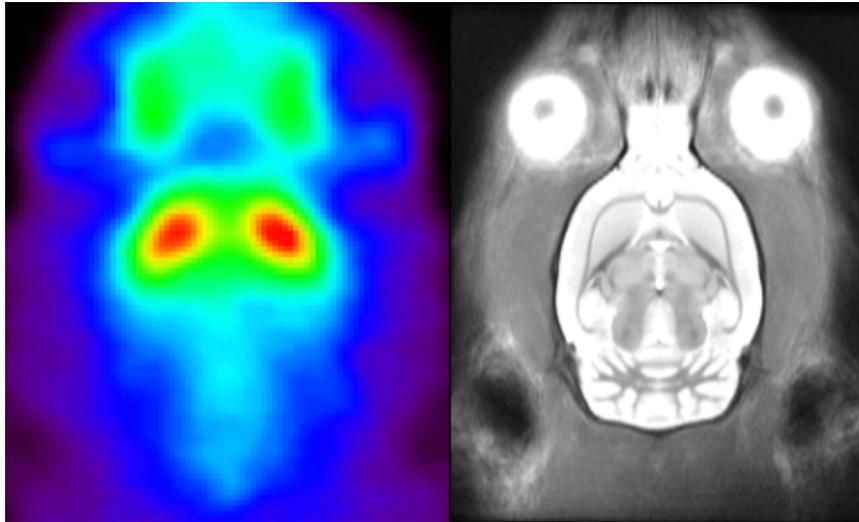


Figura 2.1. Corte sagital de imagen PET (izquierda) en su respectiva posición anatómica de el atlas de resonancia magnética (derecha) de Valdez-Hernández y colaboradores..

Análisis de las imágenes

Una vez realineadas y suavizadas las imágenes, se obtuvieron curvas de actividad contra tiempo, usando las regiones de interés y referencia de cada sujeto. Se calculó el valor DVR con el método de Logan original (LRTM) usando todos los datos dinámicos adquiridos desde el tiempo de inyección (i.e., integrando desde $t=0$ hasta T) para las regiones de interés. Para evaluar el efecto de reducción de datos, es decir, reducción del tiempo de adquisición, se calcularon valores DVR' usando datos dinámicos de los mismos estudios a tiempos distintos a cero ($t'= 10,20,30$ y 50 min después de la inyección (ver figura 2.2), usando el método LRTM modificado (ecuación 3, a $t'=10, 20, 30$ y 50 min). Los valores DVR' obtenidos, fueron usados para compararlos con el DVR del estudio completo (65 minutos de adquisición). El análisis de Logan se realizó en MATLAB (v. 2014a, The MathWorks Inc., Natick, MA), usando $t^* = 30$ min.

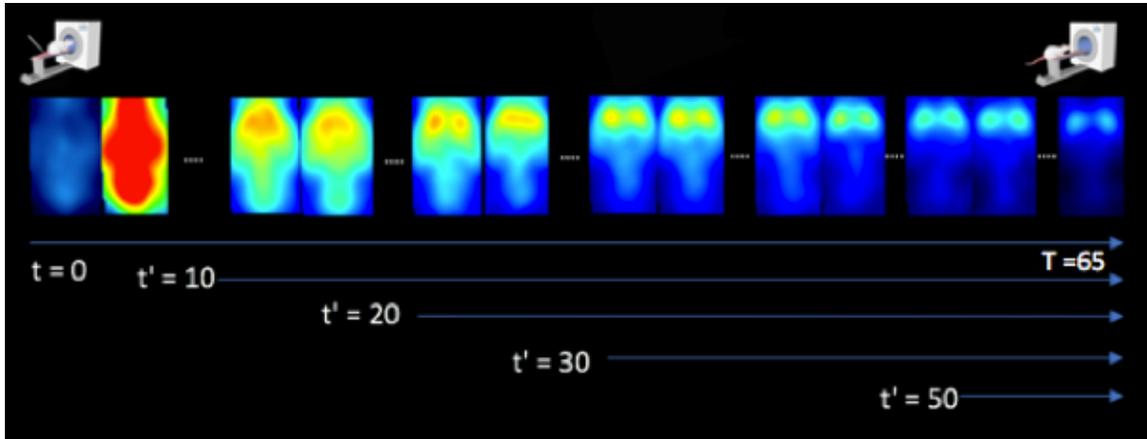


Figura 2.2. Corte sagital de la captación de ^{11}C -DTBZ en cerebro de rata a lo largo del tiempo desde el momento de la inyección ($t=0$) hasta el final del estudio ($T=65$ min).

Análisis estadístico

De los datos obtenidos, se calculó el valor promedio \pm desviación estándar ($n=10$) para cada tiempo. Una regresión no lineal fue aplicada a los valores DRV' para determinar el valor de α (α) para la función propuesta $\phi(t')$. Para comparar los valores DVR obtenidos de los datos completos y los estimados por medio de $\text{DRV} = \phi(t')\text{DVR}'$, se realizó un análisis de Bland-Altman ($p < 0.05$).

Se realizó el mismo análisis a datos previamente adquiridos de dos sujetos sanos y tres enfermos de Parkinson. Estas imágenes PET de ^{11}C -DTBZ fueron adquiridas en la Unidad PET/CT de la Facultad de Medicina de la UNAM en un tomógrafo Siemens Biograph 64 PET/CT. Los datos en modo de lista fueron reconstruidos en 25 imágenes ($6 \times 60\text{s}$, $7 \times 120\text{s}$, $10 \times 180\text{s}$ y $2 \times 300\text{s}$) con un algoritmo 2D-OSEM en una matriz de 256×256 píxeles (tamaño de píxel: 4mm por lado), incluyendo todas las correcciones necesarias para obtener imágenes cuantitativas, y se realizó un suavizado gaussiano de 8mm. Todo el análisis subsecuente fue realizado como está descrito para animales, pero usando una esfera de 4mm de radio, centrada en putamen como región de interés y una de 4mm en corteza occipital como región de referencia.

Resultados

La figura 2.3 muestra un ejemplo de la fusión de resonancia magnética con imágenes paramétricas PET de la captación de ^{11}C -DTBZ en cerebro de humanos y ratas en diferentes cortes anatómicos. El radiofármaco, en sujetos sanos se capta en todo el cuerpo estriado (figura 2.3, izquierda), mientras que en sujetos con enfermedad de Parkinson y en el modelo animal, la captación está disminuida (figura 2.3, derecha).

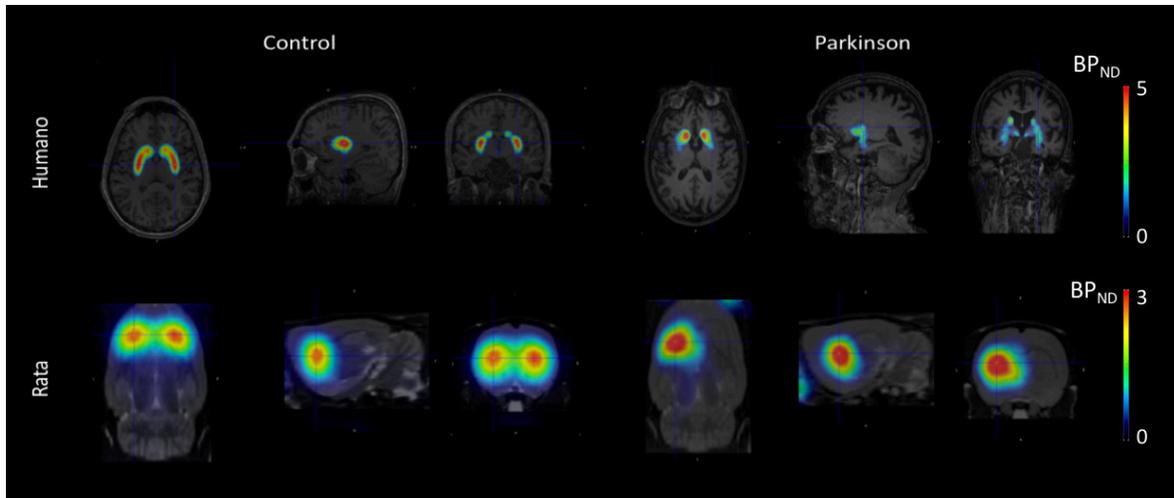


Figura 2.3. Imágenes paramétricas PET fusionadas con su referencia anatómica (MRI) de ratas y humanos, sanos y con enfermedad de Parkinson.

Se obtuvieron curvas de actividad vs tiempo (TAC, por sus siglas en inglés) usando los datos completos de 65 minutos para calcular el valor DVR verdadero, la figura 2.4 muestra CATs típicas de rata control y lesionada con 6-OHDA correspondientes al estriado y cerebelo. Las curvas de actividad vs tiempo fueron obtenidas usando el conjunto completo de datos dinámicos de 65 minutos, en la figura 2.4, se muestra una curva típica normalizada a la máxima captación. La figura muestra curvas de regiones de interés y referencia de una rata sana (negro, naranja) y una lesionada (azul, gris). Haciendo el análisis de Logan modificado, el valor DVR se incrementa al eliminarse datos de los primeros minutos de adquisición, simulando estudios de menor duración.

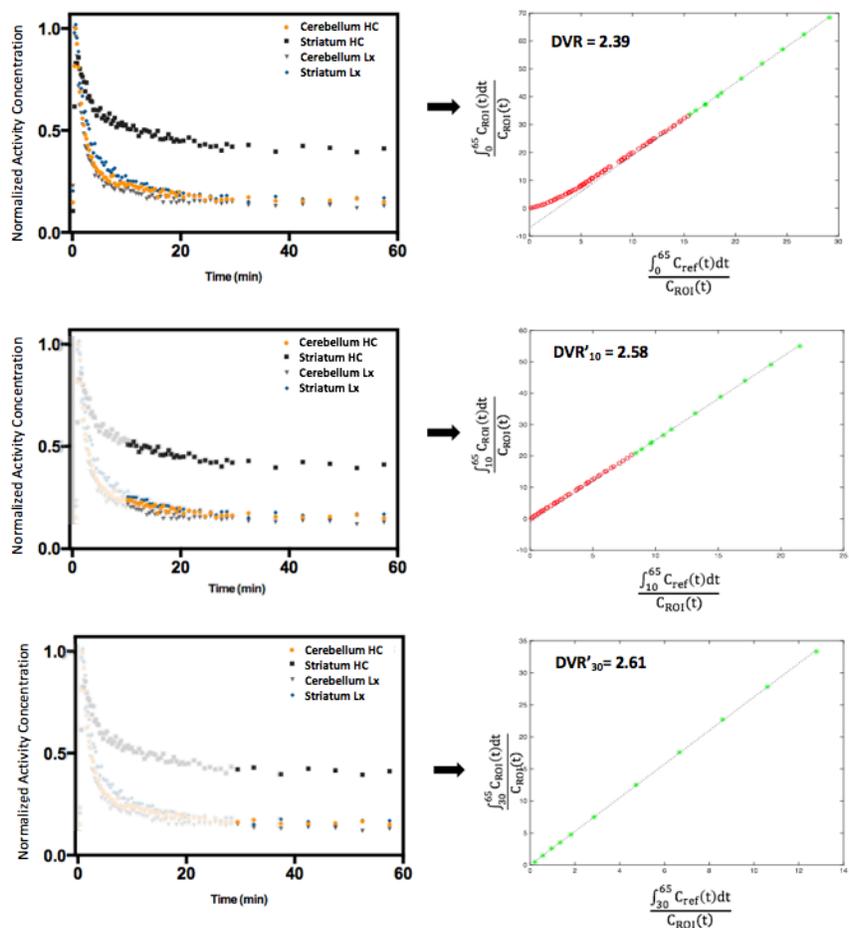


Figura 2.4. Curvas de actividad vs tiempo (izquierda) tomando en cuenta todos los datos (arriba), eliminando los primeros diez minutos de adquisición (centro) y eliminando los primeros 30 minutos de adquisición (abajo), los puntos con marcas de agua son los datos eliminados de los datos completos para realizar el análisis de Logan modificado. De lado derecho se muestran las respectivas gráficas de Logan y el valor DVR obtenido para cada conjunto de datos en rata sana. Los círculos en rojo de las gráficas de la derecha son datos que no se toman en cuenta para la regresión lineal, mientras que los que están en verde son los usados para estimar el valor DVR.

La reducción de datos, i.e., la reducción del tiempo de adquisición se traduce en una sobreestimación en el cálculo del valor DVR (2-4%) como se muestra en la figura 2.5 y en la tabla 2.1 Los resultados muestran que, después de 5 minutos de la inyección, el valor DVR se incrementa, manteniendo esta tendencia a lo largo del estudio conforme se va haciendo el análisis a tiempo después de la inyección. Los estudios preliminares realizados con humanos muestran las mismas tendencias.

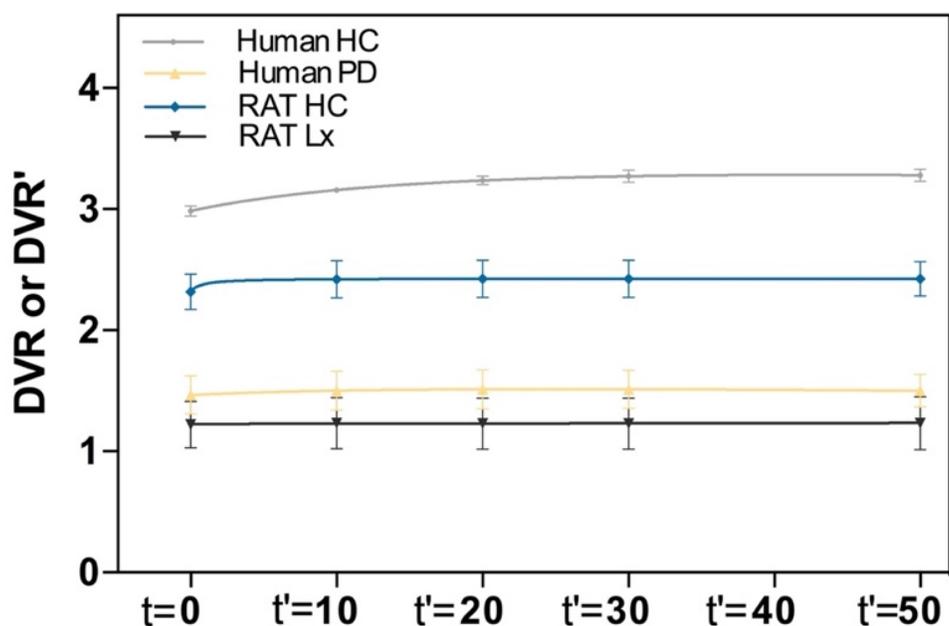


Figura 2.5. Comparación del valor DVR obtenido del estudio completo ($t=0$) y de los valores DVR' obtenidos a diferentes tiempos posteriores al tiempo de inyección. La escala de tiempo está en minutos eliminados del estudio completo, posteriores al tiempo de inyección.

Tabla 2.1 Promedio de los valores DVR evaluados en ratas (estriado) y humanos (putamen) a distintos tiempos, 10 animales fueron evaluados en cada grupo, mientras que para humanos fueron tres pacientes con enfermedad de Parkinson y 2 controles sanos, la desviación estándar se muestra entre paréntesis.

	DVR	DVR' ₁₀	DVR' ₂₀	DVR' ₃₀	DVR' ₅₀
Rata sana	2.32(0.15)	2.42(0.15)	2.43(0.16)	2.42(0.16)	2.42(0.14)
Rata lesionada	1.22(0.21)	1.23(0.22)	1.23(0.23)	1.23(0.23)	1.23(0.23)
Humano control	2.99(0.05)	3.16(0.15)	3.24(0.04)	3.28(0.05)	3.28(0.05)
Humano Parkinson	1.46(0.16)	1.50(0.16)	1.51(0.16)	1.51(0.16)	1.49(0.13)

Un análisis ANOVA de medidas repetidas mostró que el valor DVR' para ratas lesionadas y pacientes de Parkinson no difieren del valor DVR del estudio completo (Lx:

$F(4,9)=0.1531$ $p=0.96$, PD: $F(4,5)= 2.418$, $p=0.18$). Por otro lado, en los controles el valor DVR y el DVR' existen diferencias estadísticamente significativas (ratas sanas: $F(4,9) = 54.68$ $p<0.0001$, humanos control $F(4,3)=40.14$ $p = 0.007$). En estos casos, el valor DVR' tiene que ser corregido para inferir el valor DVR.

Se utilizó una regresión no lineal para ajustar los datos mostrados en la figura 2.5, obteniendo un valor de α para cada caso, usado para calcular $\Phi(t')$. Estos valores $\Phi(t')$ fueron usados para inferir el valor DVR mediante la ecuación $DVR=\Phi DVR'$, los valores estimados de esta forma fueron comparados con el valor DVR calculado del análisis de Logan con los datos completos haciendo un análisis de Bland-Almand (figura 2.6). En datos de ratas se obtuvo un error porcentual de 0.26, 0.41, 0.04 y 0.39 % para los tiempos $t'=10, 20, 30$ y 50 min, respectivamente. Para el modelo animal de la EP, los valores son despreciables. Similarmente, para humanos control (datos no mostrados) se encontraron errores de -3.08%, -3.07, -1.75 y 2.58 % a los tiempos $t'=10, 20, 30$ y 50 min, encontrando también errores despreciables en pacientes con la enfermedad de Parkinson.

Tabla 2.2 Valores α y Φ obtenidos para los distintos tiempos evaluados para ratas controles sanas y lesionadas 6-OHDA.

	α	Φ_{10}	Φ_{20}	Φ_{30}	Φ_{50}
Ratas sanas	0.002574	0.9873	0.9749	0.9628	0.9396
Ratas lesionadas	0.0004459	0.9978	0.9956	0.9929	0.9889

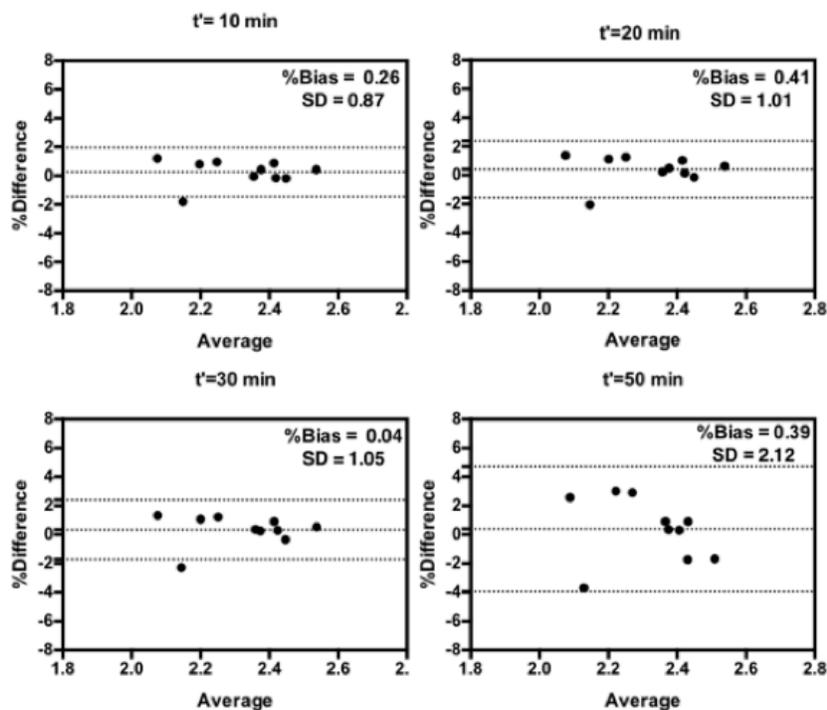


Figura 2.6. Análisis de Bland-Almand para comparar valores DVR obtenidos del estudio completo de 65 minutos y el valor estimado de $DVR = \phi DVR'$ para los distintos tiempos t' de ratas control. Las líneas en las gráficas muestran el intervalo de confianza al 95%.

Discusión

El modelado compartimental de datos dinámicos PET es el método cuantitativo más preciso para determinar los parámetros farmacocinéticos subyacentes que describen los procesos fisiológicos, bioquímicos y metabólicos (Tornasi et al., 2011; Gunn, 2001). Sin embargo, esta cuantificación rigurosa no siempre es posible realizarla debido a los problemas técnicos que conlleva el método y a que requiere de toma de muestras invasivas de sangre arterial susceptibles a ruido como función de entrada y estudios dinámicos de largos tiempos de adquisición (Watabe, 2006). Por otro lado, los modelos de referencia proveen una buena precisión cuantitativa sin el uso de procedimientos invasivos, eliminando la necesidad de la toma de muestras de sangre, esta es la principal razón del por qué estos métodos han sido desarrollados y usados ampliamente en las últimas dos décadas (Zanderigo et al., 2013).

En particular, el método SRTM ha sido ampliamente usado y aceptado para realizar modelado cinético no invasivo (Lammertsma and Hume, 1996). Otros métodos, como el

LRTM, usado en este trabajo, son una alternativa sencilla de implementar que permite obtener valores cuantitativos. Desafortunadamente, estos métodos necesitan la adquisición de imágenes dinámicas de larga duración (una hora o más), limitando su aplicación clínica para estudios PET de rutina. La adquisición de imágenes PET de larga duración es impráctica por muchas razones: limita los estudios que pueden realizarse en una misma producción de radiofármacos de vida media corta (por ejemplo, radiofármacos marcados con carbono 11), incomodidad de sujetos bajo estudio pudiendo interferir en los procesos fisiológicos, por mencionar solo algunos inconvenientes. Por lo tanto, un método capaz de balancear precisión cuantitativa y tiempos cortos de adquisición es altamente deseable.

En este estudio, se propone una aproximación para inferir valores cuantitativos usando tiempos cortos de adquisición, de hasta 15 minutos, mediante una modificación del método de Logan en un modelo de rata y aplicado en humanos. Se encontró que la reducción de datos dinámicos no afecta significativamente el cálculo del valor DVR, encontrando variaciones máximas de alrededor del 3% entre DVR' y DVR; más aun, la variación está por debajo de la variación debida al método previamente calculada (7.44%) (Avendaño-Estrada and Ávila-Rodríguez, 2018). Como fue predicho de forma teórica, los valores DVR' calculados usando estudios dinámicos de menor tiempo de adquisición, sobreestiman el valor DVR, pero esta variación no es muy grande (2-3%), además puede corregirse mediante una regresión para reducir el error.

En la tabla 2.1 y en la figura 2.5 se muestra que los valores DVR' obtenidos con tiempos cortos de adquisición, son muy similares sin importar el tiempo t' (10, 20, 30 and 50 min), lo cual indica que la diferencia entre los valores DVR' y el valor DVR está dado principalmente en los primeros minutos de la adquisición después de la administración del radiofármaco. El análisis de Bland-Altman mostró que la mejor correlación entre el valor DVR obtenido con los datos del estudio completo y el valor estimado con la ecuación $DVR = \Phi DVR'$ se obtiene al tiempo $t'=30$ min para las ratas control (error=0.011) y $t'=20$ min para las ratas (error=0.001). Estos resultados fueron obtenidos de una regresión no lineal, aplicada a los datos DRV' para determinar los valores alpha (α), por lo cual se obtiene un mejor ajuste a los datos en los puntos centrales comparados con los extremos, de ahí los resultados obtenidos.

Se han realizado esfuerzos por cuantificar datos PET usando solamente adquisiciones estáticas de corta duración, por ejemplo, mediante métodos de cocientes (estriado/corteza occipital) a tiempos donde el radiofármaco llega a un cierto estado de equilibrio (Jones and Rabiner, 2012; Lammertsma et al., 1996). Estos métodos de cocientes son mucho más precisos que el SUV, pero no siempre se relacionan de manera precisa con interacciones fisiológicas y algunos radiofármacos nunca alcanzan al estado de equilibrio como es el caso de ^{11}C -DTBZ. Se han propuesto otras aproximaciones como el análisis a dos tiempos posteriores a la administración del radiofármaco (Alves et al., 2017), métodos de regresión (Slifstein et al., 2015), etc. Estos métodos han sido desarrollados como una alternativa para obtener una aproximación al valor DVR usando protocolos de adquisición de tiempo corto permitiendo una reducción considerable del tiempo de adquisición, pero estimando solamente una aproximación del valor DVR real. Una versión modificada del método de Logan utilizando los últimos 60 min de una adquisición dinámica de 120 minutos fue usada por Tantawy (Tantawy et al., 2009), comparando los resultados con los obtenidos utilizando la adquisición completa de los datos PET de ratas Sprague-Dawley administradas con ^{18}F fallypride, encontrando un valor DVR promedio a las dos horas de adquisición de 13.8 ± 0.9 mientras que el valor promedio DVR' de los últimos 60 minutos fue de 16.3 ± 1.0 . Estos resultados están acordes con nuestra hipótesis que el método LRTM a tiempos mayores de la inyección ($t' > 0$) sobrestiman el valor DVR. Desafortunadamente, en este estudio no evaluaron otros tiempos y el tiempo de adquisición aun es largo, limitando su aplicación.

El método que se propone en este trabajo puede ser utilizado con otros radiofármacos de captación irreversible. Aunque las diferencias entre los valores DVR y DVR' son dependientes del radiofármaco, siempre es posible estimar una serie de valores DVR' en función de t' , y aplicar un método de regresión para ajustar los datos a una función $\Phi(t')$ para inferir el valor DVR de $\text{DVR} = \Phi(\text{DVR}')$.

El análisis de Bland-Almand compara los valores reales de DVR con los estimados, encontrando una excelente correlación, con errores por debajo del 0.5% para animales. Este método fue aplicado exitosamente a datos adquiridos previamente de humanos sanos y de pacientes con Parkinson mostrando las mismas tendencias (error del 2-3%).

Cabe mencionar que el valor alpha (α) obtenido de la regresión no lineal es especie y estado fisiológico dependiente (sano-enfermo). Por otra parte, se requiere la adquisición de datos dinámicos en algunos sujetos antes de poder ser aplicados a grupos grandes, pero una vez que se obtiene un valor Φ , es posible aplicar el método a otros grupos, usando los mismos parámetros sin la necesidad de tiempos largos de adquisición.

Conclusión

En este trabajo se propone un método para estimar valores cuantitativos PET en estudios dinámicos en tiempos cortos de adquisición usando una versión modificada del método de Logan y una regresión no lineal. El método fue validado en un modelo de rata de la enfermedad de Parkinson y aplicado exitosamente a nivel humano, obteniendo una manera confiable de obtener valores DVR en tiempos cortos de adquisición de la imagen.

El estudio mostró que la reducción del tiempo de adquisición no afecta significativamente el valor DVR y como el incremento del valor DVR es sistemático, se puede corregir mediante una regresión lo cual hace que el método sea comprable y reproducible entre grupos.

Productos de investigación

Publicaciones preliminares en revistas internacionales con arbitraje:

A. Avendaño-Estrada, M.A. Ávila-Rodríguez. Inferring DVR values from short dynamic PET scans of ^{11}C -DTBZ in rat, mouse and human striatum. *Journal of Cerebral Blood Flow Metabolism* 37(1S), 218 (2017). DOI: 10.1177/0271678X17695989

A. Avendaño-Estrada, M.A. Avila-Rodriguez, Evaluating the impact of data reduction for the estimation of DVR values using ^{11}C -DTBZ, *J. Nucl. Med.* 57, S2-316 (2016)

Capítulo 3

Uso de modelado matemático para clasificar regiones de controles sanos y pacientes de epilepsia usando imágenes PET adquiridas con $^{18}\text{FFMZ}$ y ^{18}FDG

"Who cares for you? You're nothing but a pack of cards!"

Lewis Carroll

Resumen

Introducción: La cuantificación de imágenes cerebrales PET sirve para obtener valores útiles para comparar, de forma no invasiva, la eficiencia de tratamientos, comparar entre sujetos y localizar regiones de interés biológico (por ejemplo, un foco epileptogénico). Diversos métodos matemáticos han sido desarrollados para inferir valores cuantitativos como el potencial de unión no desplazable (BP_{ND} , por sus siglas en inglés). El método simplificado de tejido de referencia permite obtener mapas paramétricos de la captación en cerebro de 2'-[^{18}F]Fluorethylflumazenil ($^{18}\text{FFMZ}$), radiofármaco útil para mapear receptores de benzodiazepinas. El radiofármaco ^{18}F -fluoro-2-desoxy-D-glucose (^{18}FDG), es un análogo de la glucosa de utilidad clínica para detectar cambios metabólicos en cerebro. **Hipótesis:** La cuantificación de imágenes cerebrales PET permite clasificar regiones, además del foco epiléptico, de captación disminuida o aumentada de pacientes con epilepsia con respecto a controles sanos. El **objetivo** de este trabajo fue determinar diferencias entre la captación de los dos radiofármacos en cerebros de sujetos sanos comparados con cerebros de sujetos diagnosticados con epilepsia refractaria. **Métodos:** Se adquirieron imágenes PET con ^{18}FDG y $^{18}\text{FFMZ}$ de 6 pacientes con epilepsia (2 hombres, 4 mujeres) y 2 sujetos control (1 hombre, 1 mujer). El ^{18}FDG fue administrado 60 minutos antes de la adquisición estática de 10 minutos. Un día después del primer estudio con ^{18}FDG , imágenes de $^{18}\text{FFMZ}$ de cada sujeto fueron adquiridas durante 60 minutos de forma dinámica desde el momento de la administración (185-370 MBq). Cada conjunto de datos cerebrales fue segmentado usando de forma un atlas implementado en PMOD 3.8, se utilizó la captación en puente de Varolio como tejido de referencia para el modelado de BP_{ND} ($^{18}\text{FFMZ}$) y también como referencia en las imágenes de ^{18}FDG . **Resultados y discusión:** Diferencias en la captación en corteza cerebral fueron encontradas en distintas regiones comparando entre sujetos control y pacientes con epilepsia usando

ambos radiofármacos, mostrando la utilidad de la imagen cuantitativa PET. El método permite encontrar, de forma semiautomática, regiones donde la captación está disminuida. **Conclusiones:** La cuantificación de imágenes PET permite discriminar regiones de captación normal de aquellas donde existe un aumento o disminución comparados con la captación de sujetos sanos, la información obtenida puede ser de gran utilidad para dar seguimiento a nuevos tratamientos, como guía pre-cirugía o para localizar el foco epileptogénico. **Pregunta de investigación:** ¿es posible localizar regiones cerebrales metabólicamente distintas entre pacientes con epilepsia refractaria a medicamentos y sujetos controles usando la técnica PET?

Introducción

Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), existen unos 50 millones de personas con epilepsia alrededor del mundo. Por lo anterior, la investigación de nuevos tratamientos y métodos de diagnóstico es crucial para ayudar a disminuir esos números. Se han desarrollado diversos métodos de diagnóstico, tanto invasivos como no invasivos con el objetivo de tratar de localizar el foco epiléptico. Las imágenes PET juegan un papel importante como técnica de imagen en pacientes con epilepsia refractaria a tratamientos que no muestran diferencias en electroencefalogramas o con resonancia magnética.

La epilepsia ha sido estudiada con la técnica PET por medio de la biodistribución de los radiofármacos 2-[(18)F]-fluorodeoxyglucose (^{18}FDG) y fluoroflumazenil ($^{18}\text{FFMZ}$), el primero permite el estudio del metabolismo de la glucosa en el cerebro y el segundo es antagonista con alta afinidad por el receptor GABA A (Chang et al., 2005; Hodolic et al., 2016; Juhasz et al., 1999; Mitterhauser et al., 2004). Los dos radiofármacos han mostrado ser de gran utilidad en la localización del foco epiléptico, aunque se prefiere el uso de $^{18}\text{FFMZ}$ debido a su mayor especificidad.

Los estudios con $^{18}\text{FFMZ}$ se han cuantificado exitosamente usando métodos de referencia, obteniendo resultados similares a los obtenidos con $^{11}\text{C-FMZ}$ (Odano et al., 2009). Las imágenes de $^{11}\text{FFMZ}$ y de ^{18}FDG han sido usadas para evaluación prequirúrgica de pacientes con epilepsia. El método de referencia simplificado (SRTM, por sus siglas en inglés) ha mostrado ser eficaz en la obtención de valores BP_{ND} usando el puente de Varolio como región de referencia (Vivash et al., 2013).

Estudios con ^{18}F FMZ han mostrado que este radiofármaco es más eficiente en la delimitación del foco epileptogénico y mejor sensibilidad en localizaciones extratemporales comparado con los resultados de ^{18}F FDG (Koepp et al., 1997; Ryvlin et al., 1998), debido a que este último sobrestima el foco epiléptico.

Una de las grandes ventajas de ^{18}F FMZ con respecto a ^{11}C -FMZ es que la vida media del primero es más de 5 veces mayor del segundo, permitiendo la distribución a centros sin ciclotrón y aumenta la relación señal-ruido de la imagen, además de permitir su distribución a multicentros.

Aunque el problema de delimitar el foco epileptogénico es un problema abierto, a pesar de las diversas técnicas que se usan para su estudio, se cree que en la epilepsia está involucrada toda una red neuronal, estudios previos de electroencefalograma intracraneal, FDG-PET, SPECT y resonancia magnética respaldan la hipótesis (Spencer, 2002).

Una vez que se obtienen imágenes paramétricas de la captación, es posible localizar regiones de captación anormal, en este trabajo se propone localizar esas regiones de forma semiautomática para servir de guía para delimitar de manera más eficiente el foco epileptogénico de forma usuario independiente y de manera cuantitativa.

Materiales y Métodos

Sujetos

Se analizaron las imágenes PET de 6 pacientes diagnosticados con epilepsia refractaria a medicamentos con foco localizado en lóbulo temporal mesial (2 hombres, 4 mujeres) y de 2 sujetos control (1 hombre, 1 mujer). Todos los sujetos firmaron una carta de consentimiento informado antes de cada estudio.

Adquisición de la imagen

Todas las imágenes fueron adquiridas en la unidad PET/CT de la Facultad de Medicina en una cámara PET/CT Siemens Biograph alrededor de las dos de la tarde. Antes de cada adquisición, se obtuvo una imagen de tomografía computarizada (CT, por sus siglas en inglés) para posicionar la cabeza del sujeto y corregir por atenuación. Se adquirieron

imágenes estáticas de cada sujeto con ^{18}F FDG (195-370 MBq) adquiridas 60 minutos después de la administración del radiofármaco, durante 10 minutos. Durante la hora de biodistribución, los sujetos se mantuvieron tranquilos, sentados en un cuarto con luz tenue. Los sujetos guardaron al menos 6 horas de ayuno, antes del estudio.

Un día después de la primera adquisición, se obtuvieron imágenes con ^{18}F FMZ (207-370 MBq) en estudios dinámicos de 60 minutos usando el siguiente protocolo de adquisición: 20x15s, 10x30s, 10x120s, 4x600s. Las imágenes fueron adquiridas desde el momento de la inyección.

Pre procesamiento de los datos

Las imágenes fueron reconstruidas usando un algoritmo 2D-OSEM (2D-ordered subsets expectation maximization) en una matriz de 128 x 128 píxeles (resolución de píxel: 4 mm de ancho). Los datos, antes de ser analizados, fueron corregidos por tiempo muerto de los detectores, decaimiento, eventos dispersados, aleatorios y por atenuación.

Procesamiento de datos

Antes de ser analizadas, las imágenes dinámicas se realinearon con respecto a la última de ellas y se les realizó un suavizado gaussiano FWHM (Full Width at Half Maximum) de 7mm usando el software PMOD 3.7 (PMOD Technologies Ltd Switzerland).

Imágenes de alta resolución de resonancia magnética (MRI, por sus siglas en inglés) fueron previamente adquiridas de cada sujeto en distintos centros (Hospital General de México (pacientes) y UAM Xochimilco (controles)). Las MRI sirvieron para segmentar regiones del cerebro de forma semiautomática usando el atlas N30R83 Maximum Probability Atlas (Hammers et al., 2003) implementado en PMOD, generando un atlas segmentado *ad hoc* para cada sujeto.

Una vez obtenida la segmentación, se corrigió a las imágenes PET para obtener los valores en cada región de forma automática, como se ilustra en la figura 3.1.

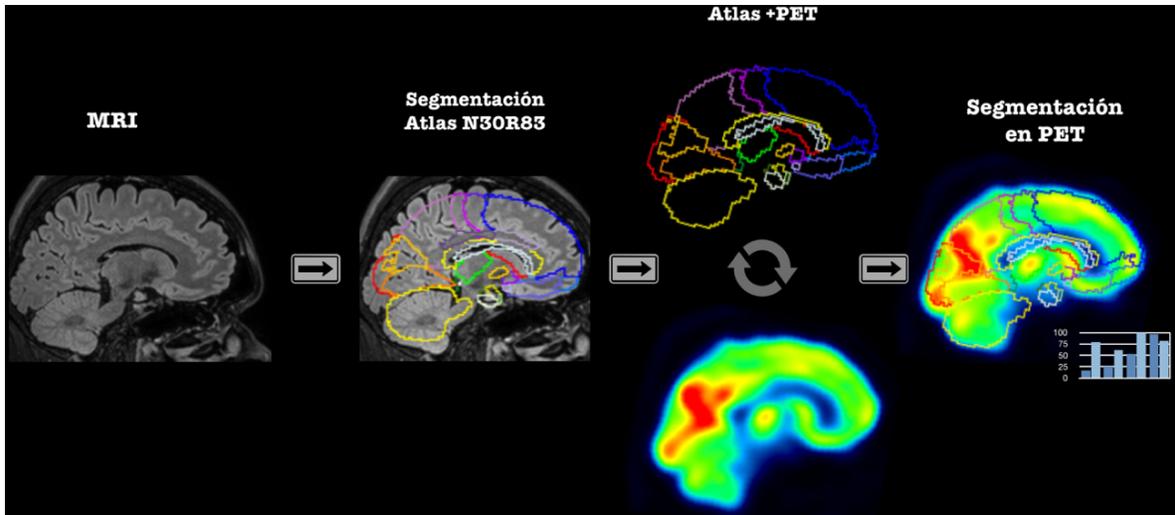


Figura 3.1. Proceso de segmentación de la MRI para generar un atlas de cada sujeto y fusionarlo con su respectiva imagen PET, de donde es posible obtener datos de cada región con fines cuantitativos.

Una vez obtenida la máscara de la segmentación se fusionó con las imágenes dinámicas de ^{18}F FMZ para obtener curvas de actividad vs tiempo de cada volumen de interés (VOI) del atlas, como se ilustra en la figura 3.2.

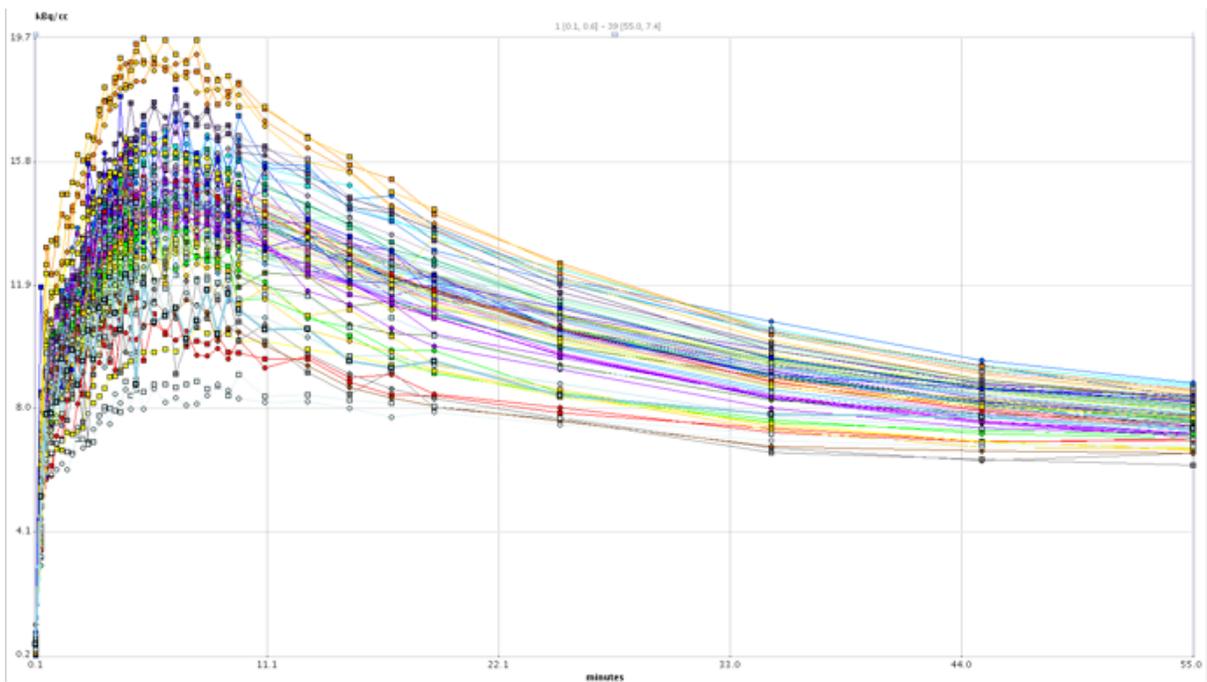


Figura 3.2. Curvas de actividad vs tiempo de las distintas regiones segmentadas de la captación de ^{18}F FMZ, los colores corresponden a la segmentación de la Figura 3.1.

Análisis de datos

Se calculó el BP_{ND} de todas las regiones corticales y del hipocampo, usando el método SRTM implementado en PMOD, usando el puente de Varolio como región de referencia.

De la segmentación de la imagen con ^{18}F FDG, los valores de concentración de actividad de las regiones corticales se dividieron entre la concentración de actividad en puente para cada sujeto.

Una vez obtenidos los valores cuantitativos de cada sujeto, se calculó la disminución porcentual de la captación de cada paciente en cada VOI con respecto al promedio de los sujetos sanos, para ^{18}F FDG se calculó de la siguiente forma:

$$Cambio (\%) = 100x \frac{BP_{ND}(sanos) - BP_{ND}(paciente)}{BP_{ND}(sanos)}$$

De forma análoga, se calculó el cambio de la captación de ^{18}F FDG usando el cociente entre la región de referencia, en lugar del BP_{ND} .

Resultados

Se obtuvieron imágenes paramétricas de la captación de cada radiofármaco de los dos sujetos control y de los seis pacientes, un ejemplo de la fusión PET/MRI se ilustra en la figura 3.3.

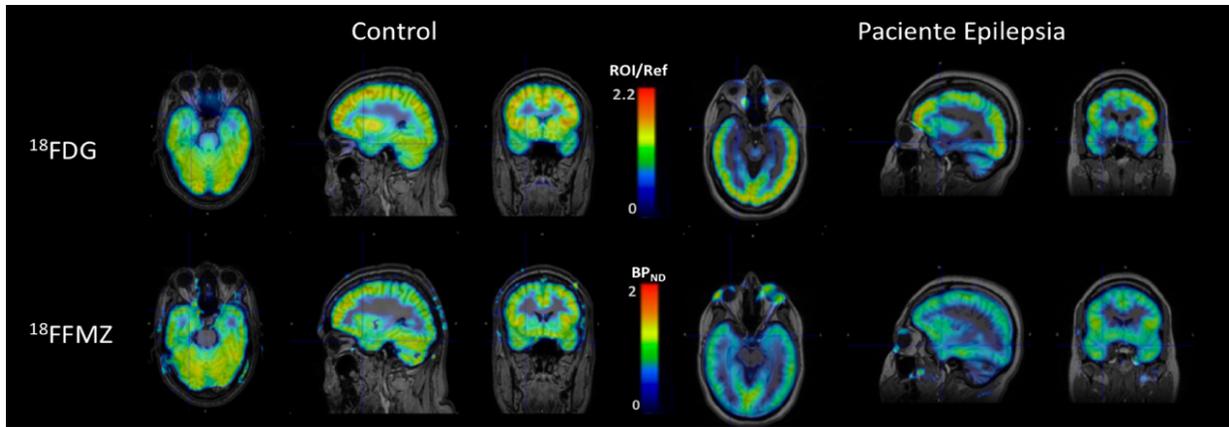


Figura 3.3. Ejemplo de fusión PET/MRI de la captación de ^{18}F FDG (arriba) y de ^{18}F FFMZ (abajo) de un sujeto control (izquierda) y uno con epilepsia (derecha).

Los valores obtenidos en cada región cortical con los dos radiofármacos fueron comparados con los respectivos valores de los sujetos control, para obtener el porcentaje de cambio de cada una de ellas (tabla 3.1).

Tabla 3.1 Disminución porcentual de la captación de FFMZ y FDG de cada paciente (n=6) con respecto a los controles sanos (n=2).

Paciente	Regiones con menor captación ^{18}F FDG	Regiones con menor captación ^{18}F FFMZ
1	<p>Giro frontal inferior Derecho (20%) Izquierdo (24%)</p> <p>Fracción inferolateral del lóbulo parietal Derecho (12%), Izquierdo (23%)</p> <p>Giro lateral orbital Derecho (15%) Izquierdo (28%)</p>	<p>Giro frontal inferior Derecho (22%), Izquierdo (17%)</p> <p>Giro medial orbital Derecho (24%) Izquierdo (14%)</p>
2	<p>Lóbulo temporal medial anterior Derecho (18%) Izquierdo (-4%)</p> <p>Lóbulo temporal lateral anterior temporal Derecho (22%) Izquierdo (1%)</p> <p>Giro parahipocampal Derecho (14%), Izquierdo (-8%)</p>	<p>Lóbulo temporal medial anterior Derecho (26%), Izquierdo (-1%)</p> <p>Lóbulo temporal lateral anterior temporal Derecho (29%) Izquierdo (12%)</p> <p>Giro parahipocampal Derecho (29%), Izquierdo (-1%)</p>
3	<p>Lóbulo temporal medial anterior Derecho (17%), Izquierdo (-8%)</p> <p>Giro lingual Derecho (-2%) Izquierdo (-3%)</p> <p>Giro temporal inferomedial Derecho (18), Izquierdo (-2%)</p>	<p>Lóbulo temporal medial anterior Derecho (-2%), Izquierdo (-16%)</p> <p>Giro lingual Derecho (2%), Izquierdo (19%)</p>
4	<p>Giro recto Derecho (23%), Izquierdo (32%)</p> <p>Giro orbital medial Derecho (14%), Izquierdo (21%)</p>	<p>Giro medial orbital Derecho (14%), Izquierdo (20%)</p> <p>Giro parahipocampal Derecho (35%) Izquierdo (47%)</p> <p>Giro fusiforme Derecho (27%), Izquierdo (46%)</p> <p>Giro orbital anterior Derecho (2%), Izquierdo (23%)</p>
5	<p>Giro orbital anterior Derecho (16%), Izquierdo (20%)</p> <p>Corteza frontal subgenual</p>	<p>Corteza frontal pre-subgenual Derecha (10%), Izquierda (15%)</p>

Derecho (11%), Izquierdo (25%)

6	Corteza frontal pre-subgenual Derecho (4%) izquierdo (14%) Giro temporal anterior superior Derecho (10%), Izquierdo (22%)	Corteza frontal pre-subgenual Derecho (1%), Izquierda (23%)
---	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------

El cambio porcentual de la captación de $^{18}\text{FFMZ}$ en hipocampo de los pacientes, comparado con los controles se muestra en la tabla 3.2.

Tabla 3.2 Disminución porcentual de la captación de $^{18}\text{FFMZ}$ de seis pacientes con epilepsia con respecto a la captación en controles sanos.

	P1	P2	P3	P4	P5	P6
Hipocampo derecho	26	41	11	9	11	21
Hipocampo izquierdo	44	10	18	39	18	38

Discusión

Aunque los radiofármacos $^{18}\text{FFMZ}$ Y ^{18}FDG se han usado ampliamente en el diagnóstico y seguimiento de pacientes con epilepsia (Chang et al., 2005; Hodolic et al., 2016; Juhasz et al., 1999; Mitterhauser et al., 2004), la información obtenida con cada uno es diferente, por lo tanto, debe interpretarse de manera distinta. Se ha reportado que la captación de ^{18}FDG en pacientes es muy variable en periodo ictal, pero en el periodo interictal presenta un decremento en la captación, al igual que $^{18}\text{FFMZ}$ (Rathore et al., 2014; Ryvlin et al., 1998; Sarikaya, 2015).

Se cuantificaron regiones de menor captación de ambos radiofármacos, comparándolos con sujetos sanos y no solamente comparados con la captación contralateral o de otras regiones del cerebro del mismo paciente como en trabajos anteriores, haciendo más objetivo el método.

Aunque $^{18}\text{FFMZ}$ es más preciso para delimitar el foco epileptogénico, su uso está restringido debido a que se requiere análisis cuantitativo de la imagen y largos periodos

de adquisición (~1h) comparados con la adquisición corta requerida con ^{18}F FDG y a la gran disponibilidad del radiofármaco en prácticamente todos los centros PET del mundo. La combinación de los datos obtenidos con ambos radiofármacos puede ser de gran utilidad pues los procesos fisiológicos bajo estudio son distintos.

En este trabajo se presenta por primera vez, una forma semiautomática de localizar regiones de captación irregular, obteniendo un método usuario-independiente de adquirir valores de captación anormal en regiones corticales, pudiendo servir de guía para delimitar el foco epileptogénico, el cual no necesariamente es una región anatómica definida, puede ser parte de alguna de ellas o la suma de varias, por tal motivo, cuando el análisis tiene fines clínicos, una delimitación hecha por especialistas, es necesario.

Como ya se ha mencionado, imágenes paramétricas obtenidas de la cuantificación de los receptores de benzodiazepinas, en escala de potencial de unión con el radiofármaco ^{18}F FMZ, son idóneas para la localización del foco epiléptico, comparadas con las adquiridas con ^{18}F FDG (Hodolic et al., 2016). Por lo anterior, pensamos que el método de análisis de ^{18}F FDG, normalizadas a puentes y comparadas con sujetos sanos, puede ser una alternativa viable para aquellos centros que no puedan hacer estudios con ^{18}F FMZ.

La robustez de los datos obtenidos con los sujetos control, a pesar de ser únicamente 2, alienta al uso de métodos cuantitativos porque faciliten la detección de regiones anómalas en pacientes.

Como se ha sugerido previamente (Spencer, 2002), aunque la epilepsia tiene un foco, el cerebro, visto como un sistema de redes neuronales esté desregulado en su conjunto, estudios de este tipo podrían ayudar a buscar regiones desreguladas usando PET y segmentaciones automáticas como las propuestas en este trabajo.

Conclusiones

El uso de métodos cuantitativos permite no sólo cuantificar procesos fisiológicos involucrados en diversos padecimientos, es útil también para la localización y delimitación de regiones de interés biológico como en el caso de la localización del foco epiléptico. La cuantificación de los datos permite, de manera objetiva, localizar, clasificar y comparar regiones inter-sujeto para comparar entre sanos y pacientes o intra-sujetos para dar seguimiento a la evolución de la enfermedad o medir la efectividad de un tratamiento.

El uso de dos radiofármacos en un mismo sujeto permite estudiar los procesos fisiopatológicos desde dos ángulos distintos, la información que se obtiene es distinta y muchas veces complementaria, permitiendo un mejor entendimiento de los procesos involucrados.

En este trabajo se propone un método cuantitativo para comparar, a nivel cortical, la captación de ^{18}F FDG y ^{18}F MMZ de pacientes con epilepsia y sujetos control, obteniendo porcentajes de cambio en toda la corteza cerebral, permitiendo así localizar regiones de captación anormal de manera usuario-independiente.

Productos de investigación

Trabajo por presentarse en el XV Mexican Symposium on Medical Physics:

A. Avendaño-Estrada, F. Velasco-Campos, J.D. Carrillo-Ruiz and M.A. Ávila-Rodríguez.
On the use of quantitative PET imaging to study human brain in healthy controls and epileptic patients: a ^{18}F FDG and ^{18}F MMZ study. (2018) CDMX

Capítulo 4

Un nuevo método para analizar pixel por pixel imágenes PET pre y post sinápticas obtenidas con ^{11}C -DTBZ y ^{11}C -RAC de sujetos sanos y pacientes de Parkinson.

"We adore chaos because we love to produce order"
Maurits Cornelis Escher

Resumen

Introducción: La tomografía por emisión de positrones (PET) es una técnica no invasiva de gran valor clínico para evaluar, *in vivo*, la integridad de la vía nigroestriada en pacientes con la enfermedad de Parkinson y en otras enfermedades relacionadas a la misma. Para este fin, un gran número de radiofármacos específicos se han desarrollado, permitiendo obtener información neuronal a nivel pre- y post-sináptico que ayuda a tener un mejor diagnóstico diferenciado. **Hipótesis:** La información que puede ser obtenida analizando datos PET de la vía dopaminérgica pre y postsinápticos correlaciona mejor con la clínica comparado con el análisis de forma independiente. **Objetivo:** Comparar y evaluar estudios de dos radiofármacos (pre- y post-sináptico) para comparar la captación específica en cuerpo estriado de pacientes y voluntarios sanos a nivel pixel. **Métodos.** Se realizaron dos estudios PET a 4 pacientes y 2 controles usando (+)-alpha-[^{11}C]Dihydrotetrabenazine (^{11}C -DTBZ) y [^{11}C]Raclopride (^{11}C -RAC) (185-370 MBq, cada estudio). Se adquirieron estudios cerebrales durante 30 minutos, después de 20 minutos de biodistribución, en una cámara Siemens Biograph 64 PET/CT. Las imágenes fueron normalizadas al espacio anatómico MRI152 y analizadas en Statistical Parametric Mapping (SPM12) para obtener valores normalizados de captación en regiones estriatales, usando la corteza occipital y el cerebelo como región de referencia para ^{11}C -DTBZ y ^{11}C -RAC, respectivamente. **Resultados:** Se obtuvo la captación normalizada de ^{11}C -DTBZ y de ^{11}C -RAC en sujetos sanos y pacientes con Parkinson. Se comparó el valor de captación en el estriado a nivel pixel, mostrando una correlación lineal entre los dos radiofármacos para sujetos sanos, mientras que para los pacientes, se obtuvieron patrones irregulares sugiriendo gran entropía en el sistema. Se obtuvo una métrica para comparar los valores, obteniendo una buena correlación con la escala UPDRS motora. **Conclusiones:** Este estudio preliminar, sugiere que un análisis a nivel pixel de dos estudios PET obtenidos

con radiofármacos diferentes en el mismo sujeto, puede proveer más información en la precisión del diagnóstico de la enfermedad y puede ayudar a la clasificación de otras dolencias, comparado con la información que se puede obtener de forma independiente.

Pregunta de investigación: ¿Es posible la obtención de información que correlacione con el estadio clínico de pacientes con Parkinson analizando en forma conjunta, a nivel pixel, datos PET pre y postsinápticos de la vía dopaminérgica?

Introducción

La enfermedad de Parkinson es un desorden neurodegenerativo del sistema nervioso que afecta, mayormente el sistema motor, teniendo gran impacto en la calidad de vida de quién la padece. La enfermedad se relaciona con la muerte celular en sustancia nigra. Aunque la etiología de la enfermedad aún permanece oculta, es bien sabido que el sistema dopaminérgico es el sistema más afectado en estos pacientes. Debido a la complejidad de la enfermedad y a la similitud en síntomas con otras enfermedades neurodegenerativas, un diagnóstico preciso es necesario. Actualmente, el diagnóstico está basado en criterios clínicos caracterizados por síntomas motores que incluyen bradicinecia, rigidez, temblor en reposo e inestabilidad postural (Hsiao et al., 2014; Karimi et al., 2013).

La imagenología PET, ha empezado a jugar un papel importante en el diagnóstico debido al desarrollo de un gran número de radiofármacos específicos del sistema dopaminérgico con alta afinidad a nivel pre- y post-sinápticos, como ^{11}C -DTBZ y ^{11}C -RAC, respectivamente.

Se ha mostrado que la cuantificación de la captación de los radiofármacos se relaciona con el estadio clínico de la enfermedad (Alakurtti et al., 2015; Hsiao et al., 2014; A A Lammertsma et al., 1996; Loane and Politis, 2011).

El ^{11}C -DTBZ tiene alta afinidad por la vesícula transportadora de monoaminas tipo 2 (VMAT2) en cuerpo estriado, el radiofármaco tiene gran potencial como biomarcador para medir la integridad de la vía dopaminérgica *in vivo* y para evaluar la severidad de la enfermedad; además ha mostrado una buena reproducibilidad en estudios de humanos

sanos, siendo idóneo para cuantificar cambios (Chan et al., 1999; Hsiao et al., 2014; Karimi et al., 2013).

El ^{11}C -RAC tiene alta afinidad por el receptor de dopamina tipo D2, estudios con este radiofármaco han mostrado una buena reproducibilidad en cuerpo estriado de humanos (Alakurtti et al., 2015), convirtiéndolo en un radiofármaco capaz de determinar, de manera indirecta, cambios en niveles de dopamina endógena.

El análisis a nivel pixel requiere de la normalización anatómica de cerebros, por lo que se han desarrollado varios atlas anatómicos basados en imagen para este fin, y uno de los más usados es el MNI152 (Montreal Neurological Institute of McGill University Health Centre), el cual es un atlas promedio de imágenes de resonancia magnética de cerebros adultos, hombres y mujeres, en el espacio Talairach, que permite localizar esterotáxicamente regiones cerebrales (Hammers et al., 2003).

Otra ventaja de normalizar las imágenes es que existen segmentaciones de distintas regiones dentro del estriado, como la hecha por Tzortzi (Tziortzi et al., 2014) que segmenta el cuerpo estriado humano en regiones de funcionalidad, tomando en cuenta la probabilidad de conectividad a regiones corticales, característica útil en la cuantificación de radiofármacos como ^{11}C -RAC que puede mostrar variaciones en la captación en ciertas regiones dependientes de dopamina que se ven afectadas por el estado de ánimo del paciente y pueden ser una fuente de variabilidad en la imagen. Con estos atlas se puede focalizar la investigación, por ejemplo, se pueden estudiar de forma aislada regiones involucradas con problemas motores como es el caso de la enfermedad de Parkinson.

Este estudio combina la segmentación de regiones subestriatales con medidas obtenidas de información para presentar y evaluar la precisión del método propuesto.

Los radiofármacos ^{11}C -RAC y ^{11}C -DTBZ han mostrado ser de gran utilidad para evaluar la enfermedad de Parkinson de forma independiente, sin embargo, creemos que la evaluación puede mejorar significativamente si se usa información combinada de los dos

y se analiza a nivel pixel, con el fin de evaluar la integridad pre- y post-sináptica con una sola métrica.

Materiales y Métodos

Sujetos y adquisición de imágenes:

Se obtuvieron imágenes PET de 4 pacientes con enfermedad de Parkinson (2 hombre, 2 mujeres, promedio: 58 años rango: 44-74) y de 2 sujetos sanos (hombre, mujer, promedio: 32 años). Todos los sujetos firmaron una carta de consentimiento informado.

Las imágenes de cerebro fueron obtenidas durante 30 minutos, después de 20 min de biodistribución con los radiofármacos ^{11}C -RAC y ^{11}C -DTBZ (185-370 MBq), con una semana de separación entre estudio. Las imágenes se adquirieron en el equipo Siemens Biograph 64 de la Unidad PET/CT de la Facultad de Medicina de la UNAM.

Se reconstruyeron las imágenes usando un algoritmo 2D-OSEM en una matriz de 128 x 128 pixeles con un tamaño de pixel de 4mm por lado, las imágenes fueron corregidas por tiempo muerto de los detectores, decaimiento, eventos dispersados, aleatorios y por atenuación, usando una tomografía computarizada adquirida antes de cada estudio.

Normalización

Para comparar la captación a nivel pixel entre sujetos, es necesario normalizar anatómicamente las imágenes de cada sujeto pues los cerebros difieren en tamaño y forma.

Las imágenes de cada sujeto se normalizaron al atlas MNI152 usando el software Statistical Parametric Mapping (SPM12) en Matlab. Las imágenes se normalizaron usando un tamaño de pixel de 2 mm.

Análisis

Una vez que todas las imágenes se tienen en el mismo espacio anatómico, se calcularon cocientes entre la región de interés y la región de referencia: estriado/corteza occipital para ^{11}C -DTBZ y estriado/crus (cerebelo) para ^{11}C -RAC. En la figura 4.1 se muestra un ejemplo de una máscara (VOI) de la regiones de interés y de referencia para realizar el

cociente con ^{11}C -RAC, usando el atlas Oxford-GSK-Imanova Structural–anatomical Striatum Atlas (Tziortzi et al., 2011).

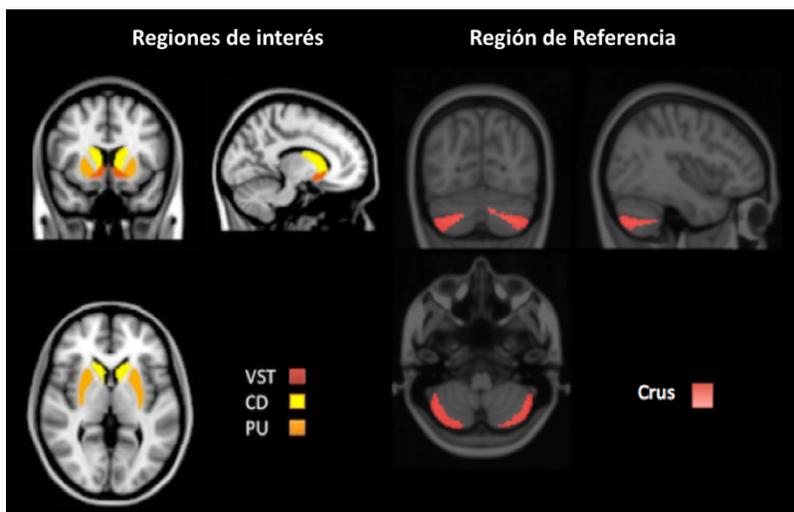


Figura 4.1. Ejemplo de máscaras usadas para obtener las regiones de interés (izquierda): VST (estriado ventral), CD (caudado) y PU (putamen) usando la región del cerebelo, crus como referencia en la normalización de la captación de imágenes PET ^{11}C -RAC.

En el ejemplo de la figura 4.1, se utilizó una máscara con una subdivisión anatómica de tres regiones estriatales, con fines ilustrativos. En este trabajo se utilizó una máscara con 7 subdivisiones funcionales del estriado, divisiones de probabilidad de conectividad con regiones corticales, máscara incluida en los atlas de FSL (Oxford University). Las regiones están asociadas con el sistema límbico (R1), ejecutivo (R2), motor rostral (R3), motor caudal (R4), parietal (R5), occipital (R6) y temporal (R7), la subdivisión se ilustra en la figura 4.2.

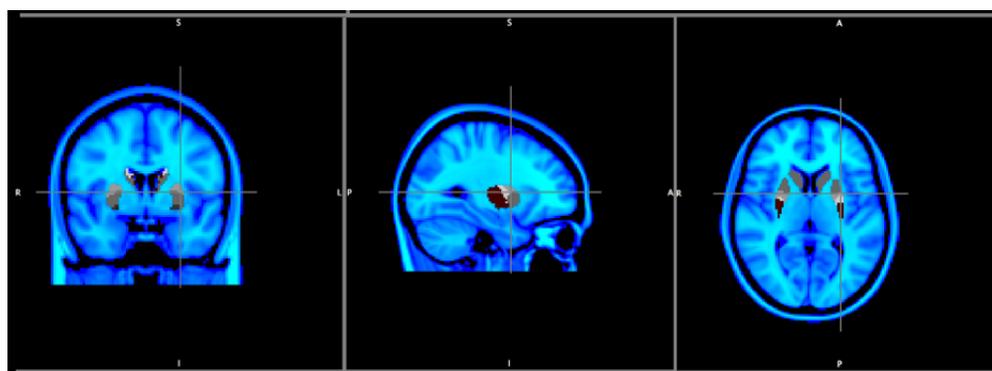


Figura 4.2. Máscara de regiones en estriado dividida por probabilidad de conectividad con corteza cerebral.

Una vez obtenidos los cocientes de cada sujeto con cada radiofármaco, se realizó un análisis comparando la captación en la posición del mismo pixel con los dos radiofármacos, como se ilustra en la figura 4.3.

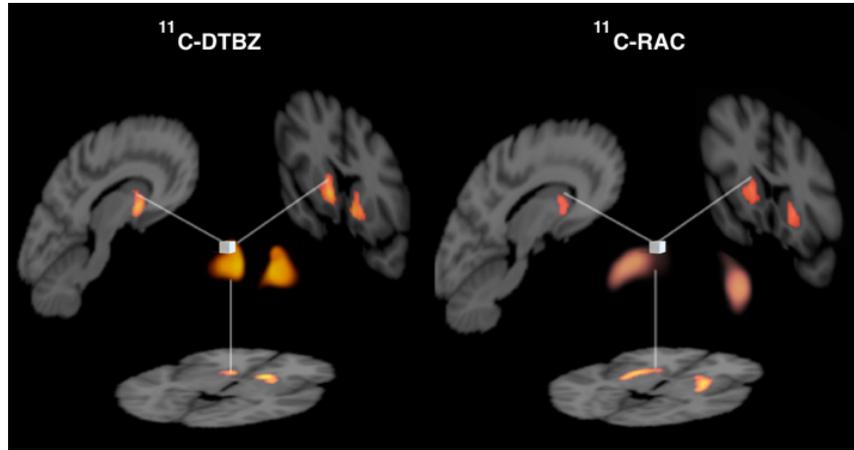


Figura 4.3. Proyección de la captación PET normalizada en tres planos anatómicos de MRI. Dentro del cuerpo estriado, se obtendrá el valor de cada pixel con $^{11}\text{C-DTBZ}$ para compararse con su correspondiente de $^{11}\text{C-RAC}$. Voxel aumentado con fines ilustrativos.

La relación entre los dos radiofármacos se graficó en un plano cartesiano, obteniendo así un vector de la captación de los dos radiofármacos para cada pixel.

Con el vector, se puede obtener una nueva métrica, se puede medir, a nivel pixel, el cambio vectorial con respecto a sujetos sanos o con respecto a sí mismo después de recibir un tratamiento.

En la figura 4.4, se ilustra una posible aplicación del análisis vectorial propuesto, si el eje de las ordenadas corresponde al valor de $^{11}\text{C-DTBZ}$ y el de las abscisas a $^{11}\text{C-RAC}$, se pueden identificar 4 regiones para distinguir el aporte de cada radiofármaco. Por ejemplo, si un tratamiento está dando resultado, la flecha azul correspondería a una disminución en la captación de $^{11}\text{C-RAC}$ y un aumento en $^{11}\text{C-DTBZ}$, lo cual indica una mejoría del sistema a nivel pre- y post-sináptico, medida con un solo valor.

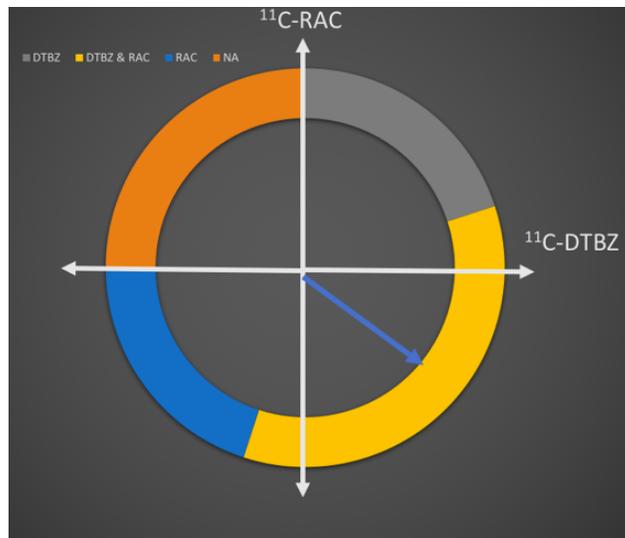


Figura 4.4. Vector de la captación del radiofármaco ^{11}C -DTBZ y ^{11}C -RAC. El radiofármaco ^{11}C -DTBZ está disminuido en la enfermedad de Parkinson, mientras que ^{11}C RAC aumentada, entonces, la región en color gris indica una mejoría presináptica mientras que la azul una postsináptica, la región amarilla indica mejoría en ambas y la naranja que las dos empeoran.

Una vez obtenidos todos los vectores dentro del cuerpo estriado, es posible compararlos entre los de sujetos sanos y los pacientes o promediarlos por subregiones para ver el mejoramiento global en cierta región después de recibir un tratamiento, por ejemplo.

Los valores obtenidos con este método se compararon con la escala mUPDRS (motor Unified Parkinson's Disease Rating Scale, por sus siglas en inglés) con fines de ilustrar el potencial del método propuesto.

Se obtuvieron los vectores promedio de la región 2 del estriado (ejecutiva) y se compararon con el promedio de los vectores de los sujetos sanos en un plano polar, las gráficas y análisis se hicieron en Matlab (2014-b) y GraphPad (Prism 6.0).

Resultados

El módulo del vector de cada sujeto, así como algunos datos de la población estudiada son mostrados en la tabla 4.1 La captación de los dos radiofármacos, normalizada al espacio estándar, de un sujeto sano y un enfermo con Parkinson se ilustra en la figura 4.5

Tabla 4.1 Módulo del vector, escalas, edades y genero de la población estudiada en este estudio.

	Módulo del vector en la región 2 (ejecutiva)	mUPDRS ON	mUPDRS OFF	Edad (años)	Genero
Control_1	0.38	N.A.	N.A.	32	Mujer
Control_2	0.19	N.A.	N.A.	32	Hombre
P1	1.12	27	2	44	Mujer
P2	2.08	16	2	56	Hombre
P3	1.90	36	25	74	Hombre
P4	2.25	43	24	56	Mujer

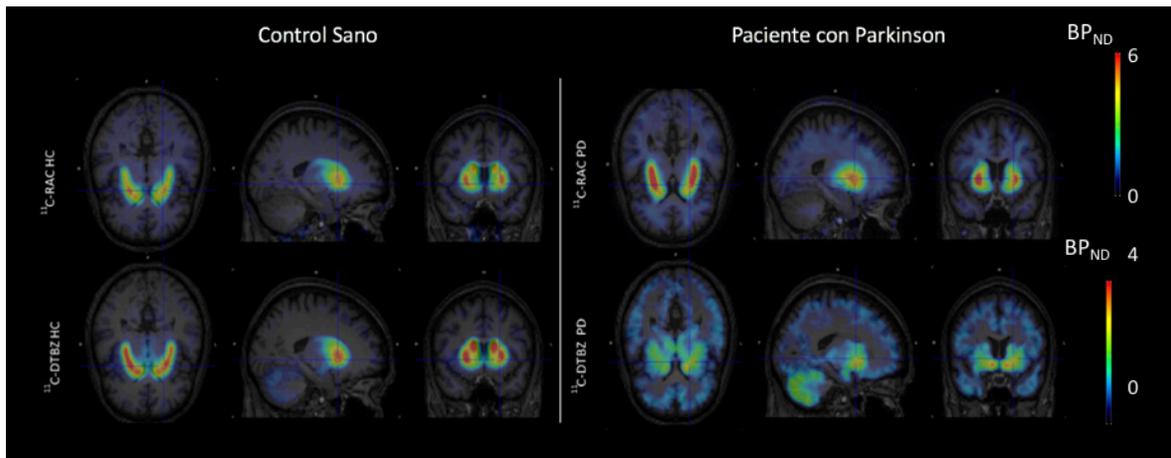


Figura 4.5. Captación de ^{11}C -DTBZ y ^{11}C -RAC en sujeto control (izquierda) y un paciente de Parkinson (derecha).
Imagen fusionada con imagen de resonancia en espacio estándar.

Un ejemplo de la relación en el espacio euclidiano de la captación de los dos radiofármacos se ilustra en la figura 4.6, nótese como la captación en las siete regiones usadas del atlas de Tziortzi en el sujeto control (izquierda) tiene un comportamiento lineal, mientras que en el paciente, la relación es entrópica.

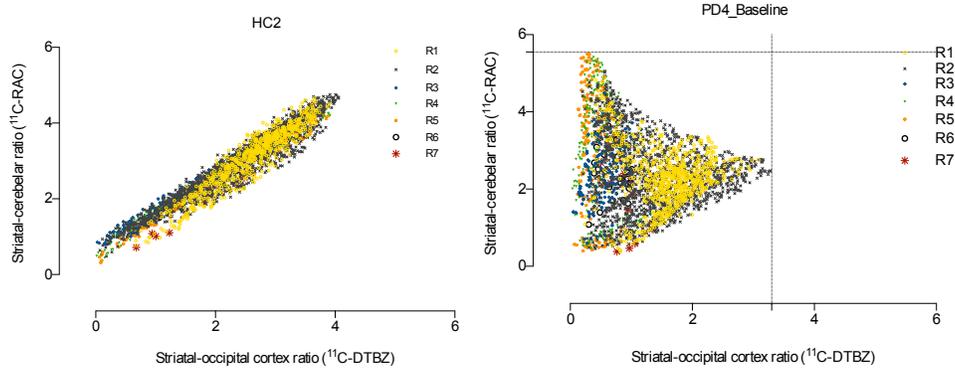


Figura 4.6. Ejemplo de captación de la posición en el plano euclidiano de la captación de $^{11}\text{C-DTBZ}$ y $^{11}\text{C-RAC}$ de sujeto control (izquierda) y paciente con Parkinson (derecha) en las siete subregiones funcionales dentro del estriado.

El método también puede ser útil para dar seguimiento a la evolución natural de la enfermedad a lo largo del tiempo o para cuantificar la eficacia de un tratamiento, un ejemplo de lo anterior se ilustra en la figura 4.7.

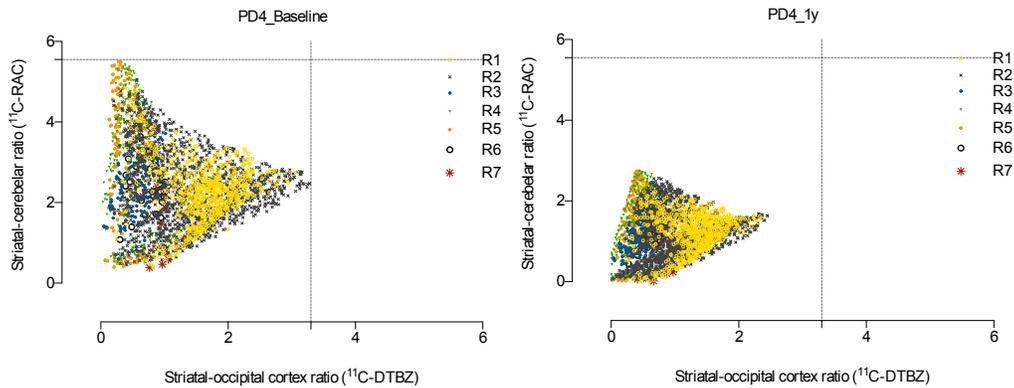


Figura 4.7. Ejemplo de captación de la posición en el plano euclidiano de la captación de $^{11}\text{C-DTBZ}$ y $^{11}\text{C-RAC}$ de un mismo paciente con Parkinson antes (izquierda) y un año después de recibir un tratamiento (derecha).

De cada paciente, se obtuvo el campo vectorial de cambio de posición en cada pixel en la región 2 (ejecutiva), como ejemplo se ilustra el campo de un paciente comparando la captación antes de iniciar un tratamiento y seis meses después (figura 4.8).

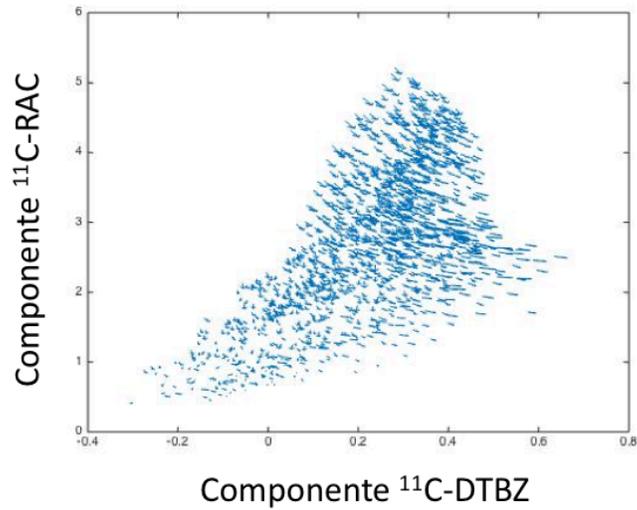


Figura 4.8. Espacio vectorial del cambio en la posición de cada pixel de la región 2 de un paciente antes y a seis meses de iniciado un tratamiento.

Una forma de cuantificar los datos obtenidos en cada región es haciendo una suma vectorial para obtener un solo vector con magnitud y dirección comparado con un tratamiento o respecto a sujetos control como se ilustra en la figura 4.9. El vector indica el cambio promedio de la posición de los pixeles dentro de la región con respecto al de los dos sujetos sanos, en la figura 4.9.

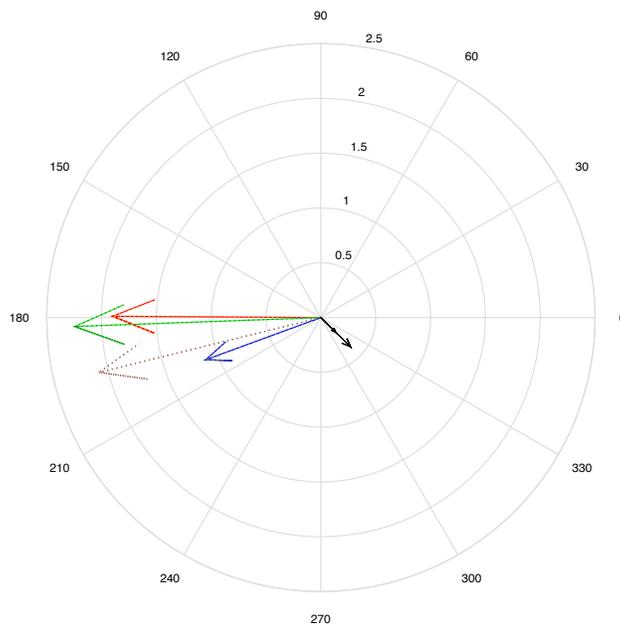


Figura 4.9. Plano polar de las posiciones promedio de los pixeles en la región 2 del estriado, relacionada a funciones ejecutivas, con respecto al promedio de los sanos. Los vectores con líneas discontinuas corresponden a los pacientes, mientras que las líneas continuas es el cambio de 2 sujetos control con respecto a su promedio.

Como ejemplo de aplicación del método, se obtuvo el promedio de las regiones 2, 3 y 4 (regiones ejecutiva y motoras) de los pacientes y se evaluaron los cambios a seis meses, un año y a los dos años después de que los pacientes recibieron un tratamiento. Los valores de cada vector a los distintos tiempos se correlacionaron con la diferencia temporal en la escala UPDRS motora y se comparó con la diferencia entre la captación de cada radiofármaco en la región 2, de forma independiente.

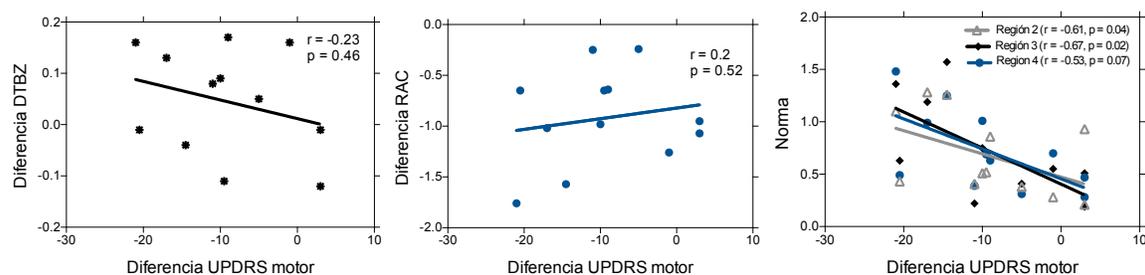


Figura 4.10. Diferencia de la captación entre el estudio basal, a seis meses y al año en la captación de la diferencia en la captación en la región 2 de ^{11}C -DTBZ (izquierda), de ^{11}C -RAC (centro) y del vector en tres regiones (derecha) en función de la diferencia en la escala UPDRS motora a cada tiempo medido. La línea continua corresponde a una regresión de Pearson, hecha con un α de 0.05.

Discusión

Los resultados preliminares sugieren que el análisis pixel a pixel de radiofármacos pre- y post-sinápticos pueden proveer de información adicional de gran utilidad en el diagnóstico y seguimiento de la evolución de la enfermedad de Parkinson. Los patrones de las correlaciones pixel a pixel pueden proveer información acerca del estadio de la enfermedad y podrían ayudar a diferenciar de otros padecimientos relacionados con la vía dopaminérgica, ayudando a un diagnóstico más eficaz.

Estudios previos han mostrado que la captación de estos radiofármacos, por separado, es reproducible (Alakurtti et al., 2011; G. L. Y. Chan et al., 1999) lo cual permite usar la combinación de ambos como medida de cuantificación.

Estudios previos también han mostrado que la captación de ^{18}F -DTBZ y ^{11}C -DTBZ correlacionan con la escala UPDRSm usando 53 (Hsiao et al., 2014) y 31 pacientes

(Bohnen et al., 2006), en cada estudio. También se ha demostrado que es posible encontrar correlaciones entre la captación de ^{11}C -RAC y la escala UPDRSm en pacientes con tratamiento de levodopa (Pavese et al., 2006).

Aunque el estudio del cuerpo estriado subdividido de manera funcional ya se había implementado usando resonancia magnética y ^{11}C -RAC (Tziortzi et al., 2014), la técnica no había sido usado como aplicación para estudiar enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Parkinson, estudiada en este trabajo. La clasificación por regiones es de gran utilidad debido a que varios radiofármacos, incluidos ^{11}C -RAC, muestran variabilidad por factores distintos a la enfermedad, por ejemplo, debido al estado de ánimo, estrés y ansiedad.

El estudio vectorial de imágenes combinadas de dos radiofármacos, aunado a una subdivisión de las estructuras de interés, convierte a la técnica PET en una herramienta eficaz para abordar nuevos problemas, pudiéndose aplicar también a estudios derivados de la psicología que dependen del estado anímico del paciente buscando correlaciones fisiológicas emanadas de la cuantificación de la imagen.

Otra posible aplicación del análisis vectorial de la captación de dos radiofármacos es su posible utilidad para distinguir pacientes de Parkinson de aquellos con parkinsonismos que por métodos convencionales no es posible discriminar. La hipótesis se basa en que el vector de pacientes con parkinsonismo tendrá distintas direcciones y/o magnitudes comparados con los de Parkinson debido a que el sistema está desregulado de forma distinta y el método vectorial es una cuantificación de la desregulación del sistema a nivel pre- y post-sináptico.

Conclusiones

En este trabajo se propone una nueva forma de obtener información de datos PET a través de la relación entre la captación de un radiofármaco pre- y otro post-sináptico, creemos que desde este enfoque se puede ayudar a tener un mejor entendimiento de los procesos involucrados en la etiología y evolución de la enfermedad de Parkinson. La limitante de este trabajo es el limitado grupo bajo estudio, pero incrementando el número de sujetos, se podrán inferir datos más concluyentes. Este trabajo se presenta como prueba de principio de un método que podría tener muchas aplicaciones, pudiéndose

aplicar a cualquier par de radiofármacos, teniendo así un panorama más completo de los procesos involucrados en diversos padecimientos neuronales.

Productos de investigación

Publicación:

A. Avendaño-Estrada, I. Madrazo, O. Kopyov, H. Carrasco-Vargas, J. Altamirano-Ley, M.A. Ávila-Rodríguez, PET molecular imaging of the dopaminergic system in Parkinson 's disease, Clin Med Img Lib 2:037 (2016).

Publicación preliminar en revista internacional:

A. Avendaño-Estrada, M.A. Ávila-Rodríguez, Pixel-wise analysis of PET images obtained with pre- and post-synaptic dopamine receptor radioligands in healthy subjects and Parkinson's disease, J. Neurolog. Sciences 381, S130 (2017).doi:10.1016/j.jns.2017.08.393

Presentación de cartel en congreso internacional:

Organization for Human Brain Mapping Congress. **A. Avendaño-Estrada**, K Oleg, I Madrazo, J. Altamirano-Levi, M.A. Ávila-Rodríguez. "Imaging the dopaminergic pathway of Parkinson disease of three PET radiopharmaceuticals". (2015) Honolulu, Hawaii

Una aplicación de la radiómica a las neurociencias

“Without big data, you are blind and deaf in the middle of a freeway”

Geoffrey Moore

Resumen

Introducción: Debido al avance en tecnologías de la computación, las imágenes biomédicas pueden analizarse de forma digital, convirtiéndose en datos susceptibles a análisis matemáticos complejos analizando las relaciones de forma y textura de la imagen; con estos datos las imágenes son idóneas para minería de datos, mediante la emergente rama denominada como radiómica. Aunque la radiómica ha mostrado ser de gran utilidad para analizar imágenes oncológicas con diferentes técnicas como MRI y CT, el estudio de imágenes PET no se ha desarrollado extensamente y no se han explorado posibles aplicaciones a la neurología. **Hipótesis:** La técnica radiómica aplicada a imágenes neurológica PET, es de utilidad para clasificar sujetos sanos de pacientes con Parkinson. **Objetivo.** Este trabajo tiene el fin de explorar, como prueba de concepto, la aplicación de la radiómica en la clasificación de imágenes de sujetos sanos de imágenes de pacientes con Parkinson. **Materiales y métodos:** Se analizaron en retrospectiva imágenes PET cerebrales de 7 pacientes con enfermedad de Parkinson y 4 sujetos control adquiridas con el radiofármaco ^{11}C -DTBZ (170-370 MBq) usando un protocolo estático de 30 minutos de adquisición, con un tiempo de biodistribución de 20 minutos. Las imágenes fueron segmentadas de forma automática usando el software ACCURATE (Groningen University) con el fin de obtener parámetros de la radiómica con el fin de comparar sujetos sanos versus pacientes. **Resultados:** Se identificaron distintos valores obtenidos del análisis con la técnica radiómica útiles para clasificar estadísticamente sujetos sanos de aquellos con enfermedad de Parkinson. **Conclusiones:** Aunque la radiómica es un campo virgen en análisis de imágenes cerebrales PET no oncológicas, este trabajo muestra que este tipo de análisis tiene un gran potencial en esa área, proveyendo datos cuantitativos capaces de clasificar grupos de sujetos. **Pregunta de investigación:** ¿Es posible obtener medidas cuantificables de utilidad clínica de imágenes neurológicas PET usando la radiómica?

Introducción

Con la disponibilidad de la tecnología digital, la imagenología cuantitativa ha contribuido enormemente a nivel investigación y en el diagnóstico clínico, convirtiéndose en una tecnología capaz de evaluar y clasificar diversas enfermedades con gran precisión (Cook et al., 2014). La radiómica es un área actual de investigación biomédica que emplea herramientas computacionales para extraer características de la imagen tomográfica de cualquier modalidad (PET, SPECT, CT, MRI) con el fin de caracterizar cuantitativamente un volumen de interés dentro de la imagen.

La radiómica fue formalmente introducida por Lambin y colaboradores en 2012 (Lambin et al., 2012), la técnica consiste en la extracción y estudio de una gran cantidad de datos obtenidos de la imagen, y es usada para predecir o decodificar rasgos genéticos y moleculares que correlacionan con la imagen. Los datos obtenidos con esta técnica contienen información espacial y textural de los patrones de escala de grises de la imagen, basada en correlaciones matemáticas entre píxeles. Estas características pueden ser modeladas en sistemas guiados por computadora que pueden servir de instrumento para diagnóstico y guía de tratamiento (Parekh and Jacobs, 2016). La información obtenida de estas imágenes radiológicas puede también combinarse con otras técnicas como genómica, proteómica, metabólica y transcryptómica para un análisis más detallado.

Aunado a la radiómica, en los últimos años se han desarrollado nuevas técnicas de reconocimiento automático de patrones en imágenes, obteniendo una gran cantidad de parámetros cuantitativos de una forma relativamente sencilla que convierten la información de una imagen en información de minería de datos como se muestra en la figura 5.1.

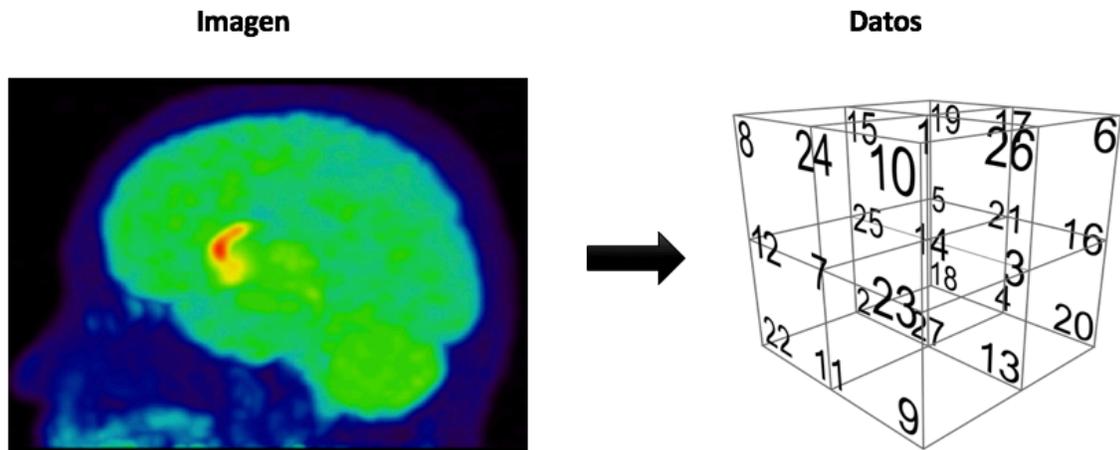


Figura 5.1. Esquema ilustrativo de conversión de una imagen en datos numéricos.

La radiómica permite inferir características como tamaño, morfología, estadística de distribución, intensidad, textura, etc. de la captación del radiofármaco en la región de interés. Tradicionalmente estas técnicas se han usado para el estudio de las características de tumores debido a las aplicaciones sencillas de implementar, por ejemplo, es posible delimitar un tumor usando una segmentación automática tomando como volumen de interés todo el volumen que abarque desde el valor de captación máxima en el tumor o región de interés hasta valores que capten el 25% de esa captación. De esta forma es posible crear un volumen de interés (VOI) del tumor con características únicas que permiten obtener decenas de medidas cuantitativas relacionadas con la captación y distribución del radiofármaco en la región de interés.

Con la técnica, se pueden obtener diversos parámetros basados en la intensidad o la morfología de la VOI segmentada, algunos se presentan a continuación.

Parámetros morfológicos:

Existen diversas características morfológicas útiles para evaluar la forma del tumor en la imagen: volumen (V), área superficial (A), cociente superficie-volumen y otras más complejas (Aerts et al., 2014) como la compacticidad definida como:

$$C = \frac{V}{\pi^{\frac{1}{2}} A^{\frac{3}{2}}}$$

y la esfericidad:

$$Esf = \frac{(36\pi V^2)^{\frac{1}{3}}}{A}$$

Existen otros parámetros como el corrimiento al centro de masa el cual está definido como la distancia entre el centro del volumen de la región de interés y el centro de la intensidad en la ROI, definida como:

$$D = \| C_{geo} - C_{inte} \|$$

donde

$$C_{geo} = \frac{1}{N} \sum_{k=1}^N \hat{x}_k$$

Siendo \hat{x}_k el vector de posición dentro de la ROI y N el número de píxeles y:

$$C_{inte} = \frac{\sum_{k=1}^N y_k \hat{x}_k}{\sum_{k=1}^N y_k}$$

donde y_k es la intensidad en cada píxel, C_{geo} es el centro geométrico de la ROI y C_{int} es el centro ponderado a la intensidad.

Este valor es importante dentro de la oncología pues si se considera que los tumores benignos tienen, en general, formas bien definidas tipo esfera, el centro de masa coincidirá con el centro de intensidad siendo un valor cercano a cero, mientras que, para tumores malignos con crecimiento irregular, la diferencia se alejará del cero.

Otros parámetros que pueden ser considerados es el tamaño del diámetro mayor (o menor) de la ROI, la elongación, densidad de volumen y área y índice de Morán que indica que tan correlacionado espacialmente está un píxel con otro (Chen et al., 2003).

Parámetros de intensidad

La intensidad está relacionada con la captación del radiofármaco, regiones de mayor captación tendrán una mayor intensidad en la imagen. Dentro de este rubro se puede encontrar valores como el pico local de intensidad (valor relacionado con un valor usado frecuentemente en clínica, SUV_{max} , con muchas desventajas debido a que es muy susceptible a ruido pues únicamente toma en cuenta el valor de un pixel), el pico global de intensidad, el promedio de intensidad en la región, la varianza, la curtosis, y el coeficiente de asimetría definido como:

$$Asi = \frac{\sum_{k=1}^N (\hat{x}_k - \mu)^3}{(\sum_{k=1}^N (\hat{x}_k - \mu)^2)^{3/2}}$$

donde μ es el nivel promedio de intensidad.

Otros valores calculados dentro de esta categoría son rangos intercuartiles, rango, coeficiente de variación, y la energía, definida como:

$$E = \sum_{k=1}^N \hat{x}_k^2$$

Valores asociados al histograma de intensidad como el gradiente máximo, uniformidad, e intensidad del histograma de entropía definida como:

$$Ent = - \sum_{i=1}^N p_i \log_2 p_i$$

con p_i el i ésimo percentil.

Recientemente se han utilizado métricas para medir distancias dentro de las ROIs basadas en ponderación a matrices de textura, y las más comunes son (Vallières et al., 2015):

Norma de Manhattan:

$$\delta_1 = \| m_x \| + \| m_y \| + \| m_z \|$$

Norma Euclidiana:

$$\delta_2 = \sqrt{m_x^2 + m_y^2 + m_z^2}$$

Norma de Chebyshev

$$\delta_\infty = \max(\| m_x \| + \| m_y \| + \| m_z \|)$$

con $m = (m_x, m_y, m_z)$, el vector de distancia a un vector centro (no necesariamente el geométrico).

Dentro de este grupo de características de textura de la imagen, se encuentra la dimensión fractal la cual se define como:

$$D = \frac{\log(a)}{\log\left(\frac{1}{s}\right)}$$

con

$$a = \frac{1}{s^D}$$

donde a es el número de partes autosimilares a un factor de reducción $1/s$ (relacionado con la escala). Si se grafica $\log(a)$ vs $\log\left(\frac{1}{s}\right)$, la pendiente será un aproximado de la dimensión.

Aunque clásicamente esta técnica se ha utilizado para el estudio de tumores, en este trabajo se evalúa la aplicación de la técnica radiómica en aplicaciones cerebrales (¿neurodiómica?).

Materiales y Métodos

Imágenes

Las imágenes utilizadas en este trabajo fueron previamente adquiridas para otro proyecto, y fueron analizadas con la técnica radiómica para explorar la técnica. En resumen, se usaron imágenes cerebrales de ^{11}C -DTBZ (170-370 MBq) de 7 pacientes con enfermedad de Parkinson (5 hombre, 2 mujeres, promedio: 56 años rango: 43-74 años) y de 4 sujetos sanos (3 hombres, 1 mujer, promedio: 45 años rango 32-65 años). Las imágenes fueron obtenidas durante 30 minutos después de 20 minutos de biodistribución.

Análisis

Las imágenes en formato DICOM (Digital Imaging and Communication in Medicine) se analizaron con el software ACCURATE (UMCG, Groningen Univeristy), y fueron procesadas para obtener los parámetros cuantitativos usados para comparar entre los sujetos sanos y los pacientes. Los parámetros fueron obtenidos delimitando el cuerpo estriado de cada sujeto mediante segmentación automática, tomando como región de interés todo el volumen que abarque desde el valor de captación máxima dentro del estriado hasta valores que capten el 25% de esa captación, como se ilustra en la figura 5.2. De esta forma, se creó un VOI de la cual se obtuvieron los valores derivados de la radiómica.

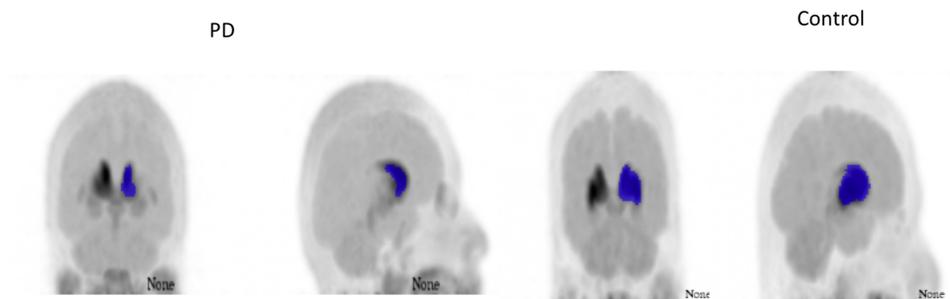


Figura 5.2. Ejemplo de segmentación automática del cuerpo estriado de un paciente con Parkinson y un control sano de imágenes PET adquiridas con ^{11}C -DTBZ.

Una vez obtenidos los datos, se compararon algunos parámetros representativos de los sujetos sanos y de los pacientes con una prueba t no pareada usando el software GraphPad (PRISM 6.1).

Resultados

La segmentación automática de las imágenes genera un volumen de interés, ilustrado en la figura 5.3, la enfermedad de Parkinson se caracteriza por una pérdida gradual en la captación de ^{11}C -DTBZ en cuerpo estriado, de forma anteroposterior, característica plasmada en la segmentación automática.

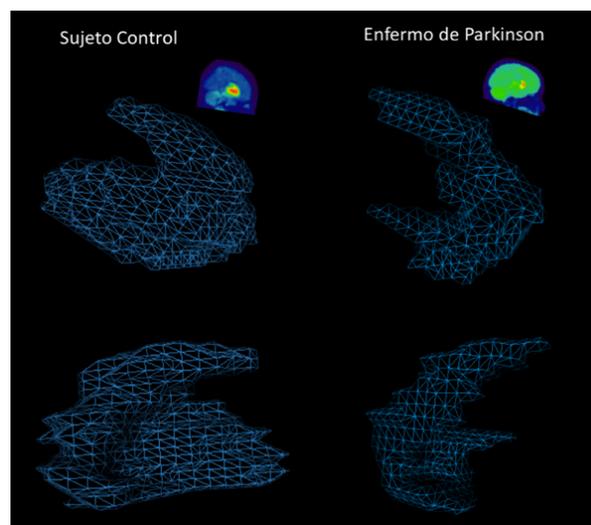


Figura 5.3 Segmentación automática del cuerpo estriado de un sujeto control (izquierda) y uno con la enfermedad de Parkinson (derecha), como referencia anatómica, se muestra la imagen PET de cada paciente, con la captación de ^{11}C -DTBZ en cuerpo estriado (en color rojo).

Al analizarse cada segmentación, es posible la obtención de parámetros que describen las relaciones de intensidad y forma entre los pixeles del VOI, algunos de ellos, de algunos sujetos, tomados como ejemplo se compilan en la tabla 5.1

Tabla 5.1 Ejemplo de valores obtenidos de la radiómica

	Control 1	Control 2	P1	P2	P3	P4
SUVMAX	7.37	6.34	3.29	5.65	3.86	5.08
SUVMIN	4	4	2.5	4	2.5	4
SUVRANGE	3.37	2.34	0.79	1.65	1.36	1.08
SUVMEAN	5.14	4.97	2.8	4.48	2.87	4.38
SUVMEDIAN	5.05	4.9	2.76	4.35	2.77	4.31
SUVSD	0.78	0.62	0.21	0.41	0.32	0.28
SUVPEAKGLOBAL	6.14	5.47	2.94	4.69	2.97	4.12
SUVIQR	1.28	1.01	0.34	0.61	0.42	0.43
COV	15.1	12.42	7.51	9.07	11.08	6.3
SKEWNESS	0.49	0.28	0.45	0.92	1.08	0.62
KURTOSIS	-0.63	-0.99	-0.88	-0.1	0.45	-0.55
RAW_KURTOSIS	2.37	2.01	2.12	2.9	3.45	2.45
TLG	57.67	37.58	11.75	16.59	6.86	7.28
MEDIANABSDEVVAL	0.65	0.53	0.18	0.32	0.24	0.23
MEANABSDEVVAL	0.65	0.53	0.18	0.34	0.25	0.23
LAPLACIANMEAN	0.73	0.85	0.32	0.59	0.5	0.76
MATV	11.21	7.57	4.2	3.7	2.39	1.66
SURF	45.54	35.5	22.33	20.97	14.53	11.5
SURF_ISO	59.68	40.16	22.81	20.48	12.31	8.4
S2V_RATIO	4.06	4.69	5.32	5.66	6.07	6.91
S2S_EQ_SPH	1.89	1.91	1.77	1.81	1.67	1.68
RADIUSEQSPHERE	1.39	1.22	1	0.96	0.83	0.73
COMPACTNESSA	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
COMPACTNESSB	0.15	0.14	0.18	0.17	0.21	0.21
DISPROPORTION	1.88	1.9	1.77	1.81	1.68	1.69
SPHERICITY	0.53	0.53	0.56	0.55	0.6	0.59
ASPHERICITY	0.88	0.9	0.77	0.81	0.68	0.69
AUC	0.76	0.83	0.88	0.85	0.8	0.92
ENERG	28317.5	17691.2	3938.51	8920.94	2372.47	3813.01
VARIAN	0.6	0.38	0.04	0.17	0.1	0.08
ROOTMNSQUARE	5.2	5.01	2.81	4.5	2.89	4.39
SUVMAXSTAR	6.82	5.99	3.2	5.32	3.61	4.78
FRACTALDIMENSION	1.87	1.79	2.46	2.32	2.06	1.99
FRACTALDIMENSION_FITTE D	2.06	1.94	2.17	2.15	2.03	1.88

MORANS_I	0.07	0.07	0.07	0.13	0.12	0.07
GEARYS_C	0.95	0.95	0.95	0.92	0.95	0.96
MAXIMUMDIAMETER	42.13	37.88	30.12	29.13	26.82	25.51
FRACTALABUNDANCE	6.73	6.34	6.26	6.11	5.59	5.23
FRACTALLACUNARITY	0.23	0.23	0.32	0.32	0.32	0.32
ENTROP	5.67	5.84	5.76	5.48	5.33	5.56
ENTROP_FXD	3.31	2.92	0.93	2.19	1.54	1.4
LOALENTROPY	4.04	4.01	3.92	3.87	3.83	3.84
LOALENTROPY_FXD	3.19	2.8	1.19	2.48	1.98	1.65
UNIFORMIT	0.02	0.02	0.02	0.03	0.03	0.02
UNIFORMIT_FXD	0.11	0.14	0.56	0.27	0.42	0.42

Con la técnica, se obtienen valores que pueden ser utilizados para comparar un grupo con otro, en la figura 5.4 se ilustra la comparación de valores de algunas características que permiten diferenciar estadísticamente sujetos sanos (barra izquierda) de enfermos de Parkinson (barra derecha).

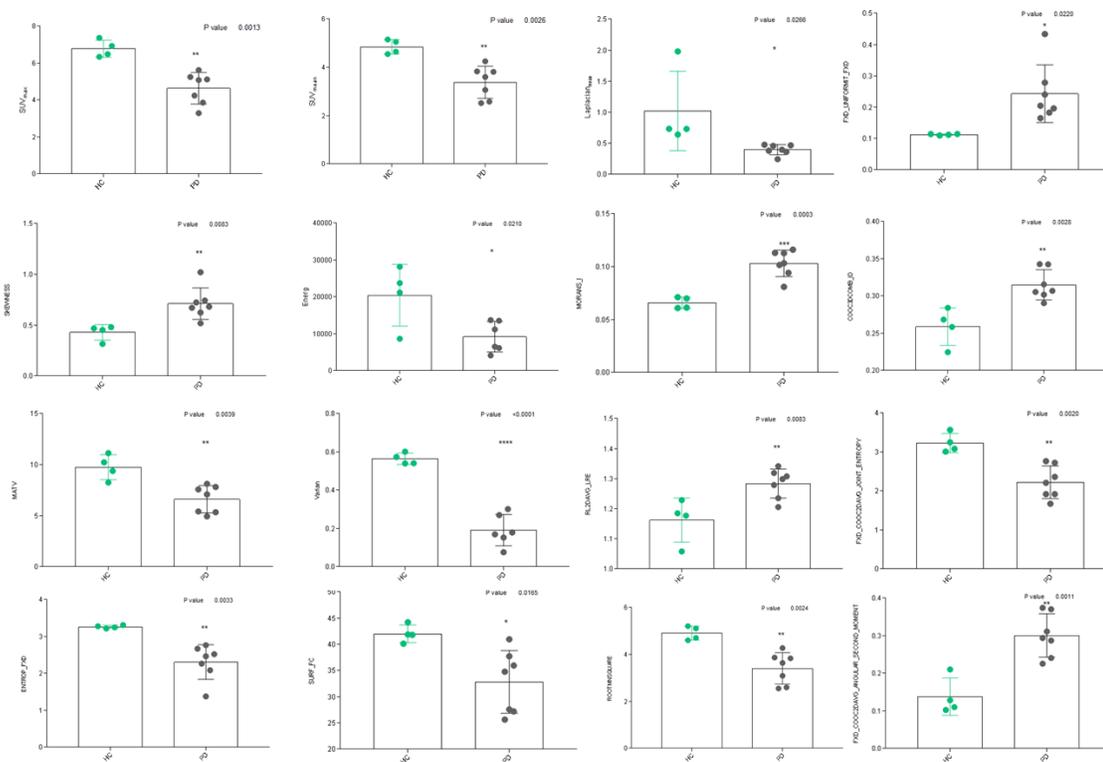


Figura 5.4. Ejemplos de comparación entre algunos valores obtenidos con una segmentación automática del cuerpo estriado de imágenes PET con ^{11}C -DTBZ de sujetos sanos (barra izquierda) y enfermos de Parkinson (barra derecha).

Discusión

La técnica radiómica ha sido usada exitosamente para clasificar y cuantificar características tumorales usando imágenes de resonancia magnética (Kotrotsou et al., 2016; Narang et al., 2016; Zhou et al., 2017). También se ha empezado a evaluar el potencial de la radiómica en aplicaciones neurológicas no oncológicas, por ejemplo, Chadad y colaboradores (Chaddad et al., 2017), usando imágenes de resonancia magnética, evaluaron regiones subcorticales para buscar características que relacionen con autismo, edad y género, encontrando diferencias en varias regiones, mostrando la utilidad de la técnica y abriendo la puerta a otras aplicaciones como la que se propone en este trabajo.

En este trabajo se mostró el potencial de la radiómica para el análisis de imágenes PET, aún con el número reducido de datos con los que se probó el método, la técnica mostró diferencias significativas entre los dos grupos. Cabe resaltar que la obtención de las métricas se realiza de forma automática, usuario-independiente, eliminando la subjetividad en el diagnóstico, teniendo así un enorme potencial como herramienta auxiliar para diagnóstico clínico.

Decenas de parámetros obtenidos de la radiómica son útiles para clasificar a los pacientes, en la figura 5.4 se ilustran algunos de ellos, el objetivo de este trabajo fue mostrar solamente la utilidad del método. Evaluar cada uno de los parámetros y obtener cuales son los mejores para clasificar es una tarea que debe hacerse con una población más grande, así como la búsqueda de correlaciones con el estadio clínico.

Estas nuevas técnicas de segmentación y clasificación pueden ser exploradas para buscar correlaciones que ayuden a un mejor entendimiento de enfermedades neurológicas, proveyendo una manera sencilla de obtener valores cuantitativos mediante métodos sencillos de implementar que permitan la obtención de una gran cantidad de parámetros cuantitativos que ayuden a clasificar condiciones clínicas.

En este trabajo se usó por primera vez la técnica radiómica para clasificar de forma exitosa pacientes de Parkinson de sujetos sanos, obteniendo diversas medidas que también pueden correlacionar con el estadio del paciente, trabajos futuros confirmarán esta hipótesis.

Conclusiones

Los avances en procesamiento y almacenamiento de datos de los últimos años han beneficiado muchas áreas, la imagenología biomédica no es la excepción y aunque es un área nueva, el potencial que tienen estas herramientas puede permitir avances a pasos acelerados en nuestro entendimiento de procesos biológicos que pueden ser estudiados y analizados con técnicas modernas como la radiómica.

Este trabajo muestra el gran valor que puede tener la aplicación de la tecnología en el ámbito de imagenología clínica mostrando que es posible analizar un grupo de pacientes y discriminarlo de sujetos sanos segmentando de forma automática (usuario-independiente), lo cual puede eliminar la subjetividad en la interpretación de la imagen, proveyendo de una herramienta que pueda discernir entre sujetos sanos y pacientes de forma cuantitativa. Este trabajo preliminar muestra que hay parámetros obtenidos de la radiómica capaces de clasificación automáticamente sanos de enfermos, sin embargo, es necesario analizar un gran número de imágenes para validar el método, una vez validado será posible encontrar correlaciones con el estadio, edad, género, pronóstico, etc.; además que podría ser usado para diferenciar entre pacientes con Parkinson y parkinsonismo.

Validación de métodos semi-cuantitativos por medio de métodos cuantitativos

"Errors using inadequate data are much less than those using no data at all."

Charles Babbage

Resumen

El uso de modelos compartimentales permite obtener la mayor información posible de datos PET, para inferir dicha información, es necesario el análisis de datos obtenidos de muestras de sangre tomadas a lo largo de un estudio dinámico de larga duración desde el momento de la administración del radiofármaco con el fin de cuantificar los procesos involucrados en la farmacocinética y farmacodinamia. Lo anterior complica la cuantificación, por tal motivo métodos simplificados deben estudiarse y validarse por medio de la cuantificación completa. **Hipótesis:** Es posible obtener medidas confiables de datos PET de forma semicuantitativa. **Objetivos:** Comparar valores cuantitativos del análisis completo de los datos usando como función de entrada datos obtenidos de la cuantificación plasmática y de datos generados a partir de un ajuste exponencial de las muestras de sangre. Validar medidas semicuantitativas como SUV mediante la medida cuantitativa proveniente del modelado compartimental (volumen de distribución total (V_d)). **Métodos:** Se analizaron en retrospectiva, imágenes dinámicas PET de 60 minutos usando ^{18}F -FLT (3'-deoxy-3'- ^{18}F -fluorothymidina) de nueve pacientes con cáncer pulmonar en tres estudios: siete días antes de comenzar su tratamiento, y 7 y 28 días después del mismo. Durante cada estudio PET, 6 o 7 muestras de sangre venosa fueron adquiridas con el fin de calcular las concentraciones de actividad en sangre, plasma y la proporción de fármaco no metabolizado, estos datos fueron usados para generar la función de entrada corregida por metabolitos y para generar una función que permita inferir la fracción no metabolizada mediante la información de plasma y sangre. Los datos se analizaron usando un modelo de dos compartimentos con los datos de plasma como función de entrada en cada curva de actividad vs tiempo de los volúmenes de interés (VOI) en el tumor, obteniendo el volumen de distribución total (V_d), para cada VOI. La respuesta a el tratamiento se midió mediante el cambio porcentual de la captación del radiofármaco con las distintas medidas con el fin de compararlas con el cambio medido

por medio del V_d . **Resultados:** Se encontró una excelente concordancia entre los V_d , obtenidos directamente del análisis compartimental y el calculado usando el ajuste para la respuesta temprana ($R^2=0.983[0.981-0.996$ (95%CI)]; ICC=0.992[0.982-0.996]) y respuesta tardía ($R^2=0.994[0.992-0.998]$; ICC=0.996[0.991-0.998]). El análisis de Bland-Altman mostró también una correlación excelente entre la respuesta temprana (error porcentual =0.284[-6.172-6.741]) y la respuesta tardía (error porcentual=-1.165[-7.125-4.795]). Las medidas semicuantitativas también correlacionan con el valor V_d , ($r =0.86-0.93$) **Conclusiones:** La concordancia entre los cambios porcentuales obtenidos usando como función de entrada los datos medidos y los ajustados, sugiere que el método es confiable para cuantificación. Medidas semicuantitativas pueden ser usadas para medir cambios en un tratamiento, pero requieren ser validadas mediante métodos cuantitativos. **Pregunta de investigación:** ¿Es confiable utilizar métodos semicuantitativos para evaluar imágenes PET?

Introducción

La tomografía por emisión de positrones no solo es útil para localizar regiones de captación específica del radiofármaco, también es útil para inferir valores cuantitativos que correlacionan con las cantidades y/o rapidez con que el radiofármaco interactúa con las distintas regiones de interés. Una vez que el radiofármaco ingresa al organismo, puede metabolizarse en otros compuestos que ya no tienen afinidad por el blanco específico pero que, al contener el isótopo marcado, contribuyen a la señal. Para hacer un modelado completo de las interacciones del fármaco en los sitios o estados de interés, se han propuesto el modelado compartimental (Gunn et al., 2001) en el cual, cada estado del fármaco se considera como un compartimento independiente. Para este tipo de análisis, es necesario conocer cómo se distribuye el radiofármaco a lo largo del tiempo desde el tiempo de inyección hasta que alcanzar el equilibrio metabólico (alrededor de 60-90 min, dependiendo del radiofármaco) y muestras de sangre para separar el plasma y metabolitos, usadas para inferir la proporción del radiofármaco no metabolizado y usarse como función de entrada del modelo, pues es la única fracción que contribuye a la captación específica.

Un análisis cuantitativo completo, requiere del análisis cinético y de información obtenida de plasma dividida en sus metabolitos, como función de entrada. La medición del

radiofármaco integro es difícil de medir debido a las complicaciones técnicas del método, lo cual se ve reflejado en una señal ruidosa.

El análisis cuantitativo completo de imágenes PET es importante para validar el uso de métodos simplificados como los usados rutinariamente en clínica. Las ventajas y desventajas de valores semicuantitativos como el SUV han sido ampliamente discutidas (Keyes, 1995; L. Zuñiga-Meneses, 2014; Visser et al., 2010), es bien sabida la enorme variabilidad de estas medidas debido a numerosos factores que incrementan el ruido de estas aproximaciones. Aunque su uso se ha extendido ampliamente en el ámbito clínico debido a la facilidad de computo, es necesario tener cuidado cuando se usa este tipo de medidas, es necesario validarlas antes de extenderlas a protocolos de investigación mediante estudios previos o mediante métodos cuantitativos.

En diversos protocolos de seguimiento de terapia se ha adoptado como medida estándar de respuesta al tratamiento, el porcentaje de cambio de la captación del radiofármaco (obtenida tanto con métodos cuantitativos como semicuantitativos) (Ben-Haim and Ell, 2009; Boellaard, 2011; Eary, 2008), y aunque estas cantidades dan indicios que permiten a los especialistas continuar o suspender diversos tratamientos, medirlos de la mejor manera posible es una de las metas de la cuantificación de imágenes. En este trabajo se comparan diversos métodos para medir esos cambios.

Materiales y Métodos

Los estudios se realizaron de forma retrospectiva, con datos previamente adquiridos en el VU University Medical Center de Ámsterdam, todos los estudios fueron aprobados por un comité de ética local y los pacientes firmaron una carta de consentimiento informado.

Los detalles del protocolo fueron previamente publicados en otro trabajo (Frings et al., 2014); en resumen, se realizaron tres estudios dinámicos PET de 60 minutos desde el momento de inyección de 9 pacientes, una semana antes de iniciar un tratamiento contra cáncer pulmonar, el segundo, una semana después y el último, un mes después. Durante cada adquisición de imágenes se obtuvieron de 6 a 7 muestras de sangre tomada de vena para obtener concentraciones de sangre, plasma y metabolitos.

Se analizaron los datos PET y de las muestras de sangre usando un modelo de dos compartimentos en PMOD (V.3.7). Se analizaron 27 volúmenes de interés (VOI) obtenidos de regiones tumorales de los 9 pacientes (tres regiones en promedio por paciente) y se usó como función de entrada la parte del radiofármaco no metabolizada (solo en el estudio basal) para calcular el volumen de distribución (V_d), medida asociada a la cantidad de radiofármaco captado en la región de interés.

Cálculo de parámetros semicuantitativos

Se calcularon los siguientes parámetros semicuantitativos de los datos del minuto 50 al 60 después de la administración del radiofármaco: SUV (standardized uptake value) normalizado al peso del paciente o normalizado a la masa magra corporal (MMC) (referido como SUL, por sus siglas en inglés) (Wahl et al., 2009) y el valor TBR (tissue to blood ratio) calculados como:

$$SUV = \frac{\text{Concentración de actividad en VOI } \left(\frac{kBq}{mL}\right)}{\text{Dosis inyectada (MBq) / peso (kg)}}$$

$$SUL = \frac{\text{Concentración de actividad en VOI } \left(\frac{kBq}{mL}\right)}{\text{Dosis inyectada (MBq) / MMC (kg)}}$$

$$TBR = \frac{\text{Concentración de actividad en VOI } \left(\frac{kBq}{mL}\right)}{\text{Concentración de Actividad en sangre o en plasma (MBq)}}$$

Usando

$$MMC^{\text{hombres}} = 9270 \cdot \text{peso} / 6680 + 216 \cdot \text{IMC} \text{ y}$$

$$MMC^{\text{mujeres}} = 9270 \cdot \text{peso} / 8780 + 244 \cdot \text{IMC},$$

$$\text{IMC} = \text{índice de masa corporal (peso/altura}^2\text{)}.$$

Modelado cinético de imágenes PET

La adquisición de muestras de sangre es un proceso laborioso altamente susceptible a ruido proveniente de muchas fuentes, una de ellas es el error humano. Para evaluar el impacto de los errores en función de entrada, se ajustaron los valores de radiofármaco no metabolizado a una función exponencial, eliminando aquellos valores atípicos (outliers) mediante un software desarrollado en la Universidad de Groningen con el fin de comparar la cuantificación sin corregir y la corregida mediante los datos provenientes del ajuste. Un ejemplo del ajuste se ilustra en la figura 6.1.

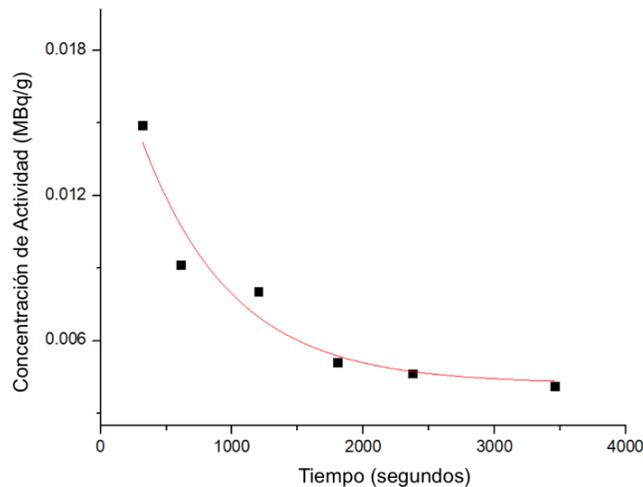


Figura 6.1. Ajuste exponencial de las muestras procesadas de sangre, usadas como función de entrada, cada punto es una muestra tomada mientras que la línea roja es la regresión exponencial hecha a los datos.

Una vez obtenido el ajuste exponencial de los datos de cada paciente, se realizó un modelo de dos compartimentos (reversible) en PMOD (v.3.7) en las regiones tumorales usando los valores de fracción sin metabolizar y los del ajuste como función de entrada obteniendo el valor V_t para cada región, un ejemplo del modelado se ilustra en la figura 6.2.

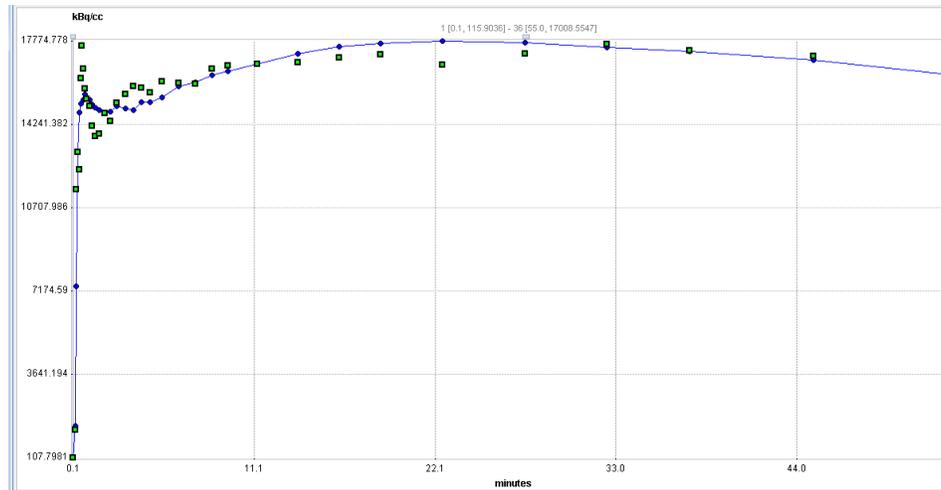


Figura 6.2. Modelado de dos compartimentos, usando como función de entrada las curvas de actividad vs tiempo y los datos obtenidos del plasma. Los puntos corresponden a los datos medidos en cada tiempo y la función es el modelado que mejor se ajusta a los datos.

Para los estudios de respuesta a tratamiento a 7 y 28 días, no se hizo un análisis de los metabolitos de la sangre, en su lugar, se infirieron de los datos del estudio basal, usando la fracción no metabolizada del radiofármaco calculado de forma indirecta con la relación de plasma/sangre derivada de una ecuación:

Fracción no metabolizada = $-104.11(\text{plasma/sangre}) + 207$, obtenida de la regresión lineal de los datos de la figura 6.3.

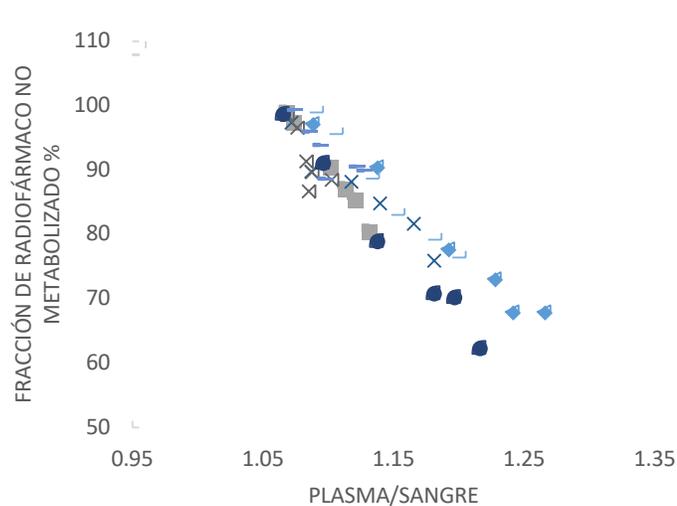


Figura 6.3. Fracción de radiofármaco no metabolizado en función del cociente plasma/sangre. Cada figura representa una de las 6-7 muestras de sangre de cada paciente.

Una vez que los valores V_d fueron obtenidos, los cambios longitudinales % fueron calculados. El porcentaje de cambio de V_d , así como de SUV y SUL y TBR se comparo de la siguiente manera:

$$\%Diferencia = \frac{\text{Valor respuesta} - \text{valor basal}}{\text{valor basal}} * 100$$

La relación entre las medidas V_d fueron calculada usando una regresión lineal (Pearson), el coeficiente de correlación de interclase (ICC, por sus siglas en inglés) y mediante análisis de Bland-Altman usando GraphPad (Sigma 6.1).

Resultados

Los valores V_d obtenidos por el método tradicional y el ajustado mediante la exponencial fueron comparados en porcentaje de cambio con respecto al estudio basal a la semana y al mes de tratamiento, encontrando un índice de correlación excelente: ICC=0.992[0.982-0.996 para estudios a una semana y a un mes ICC=0.996[0.991-0.998]. También se analizaron las diferencias por el método de Bland-Altman (figura 6.4).

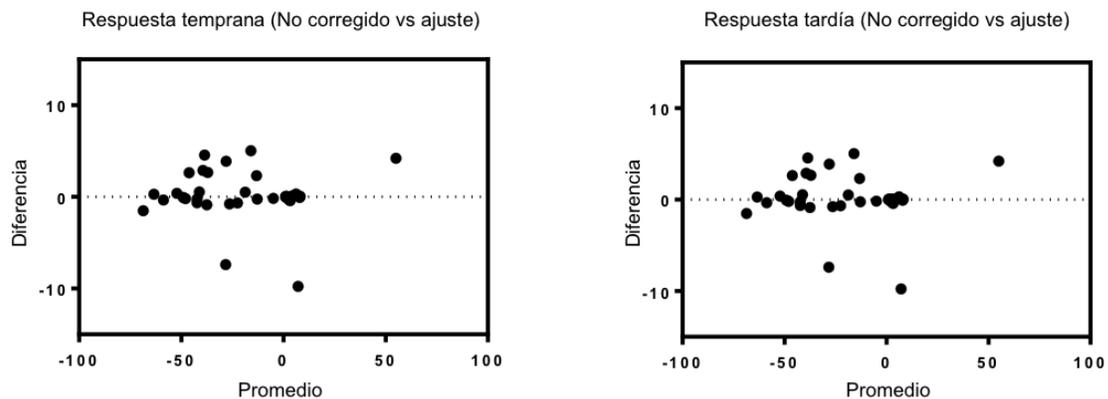


Figura 6.4. Graficas de Bland-Altman a una semana (izquierda) y a un mes (derecha) comparando el porcentaje de cambio del valor V_d con respecto al estudio basal usando los valores de metabolitos (no corregido por la función exponencial) y el ajuste propuesto.

Del análisis de Pearson se infiere que todos los métodos evaluados son capaces de medir eficientemente el cambio relativo tanto en la respuesta tardía como en la temprana ($p < 0.0001$); se comparó el cambio porcentual del volumen de distribución por el método obtenido del modelado compartimental con el cambio descrito por los demás métodos, obteniendo que los valores descritos por el ajuste exponencial se correlacionan perfectamente ($r = 0.99$) mientras que el SUV Y SUL lo hacen de manera eficiente para la respuesta temprana ($r = 0.93$) pero decrece en la respuesta tardía ($r = 0.86$), para TBR se obtuvo una r de 0.88 en la respuesta temprana y de 0.86 en la respuesta tardía, lo anterior se ilustra en las gráficas de la figura 6.5.

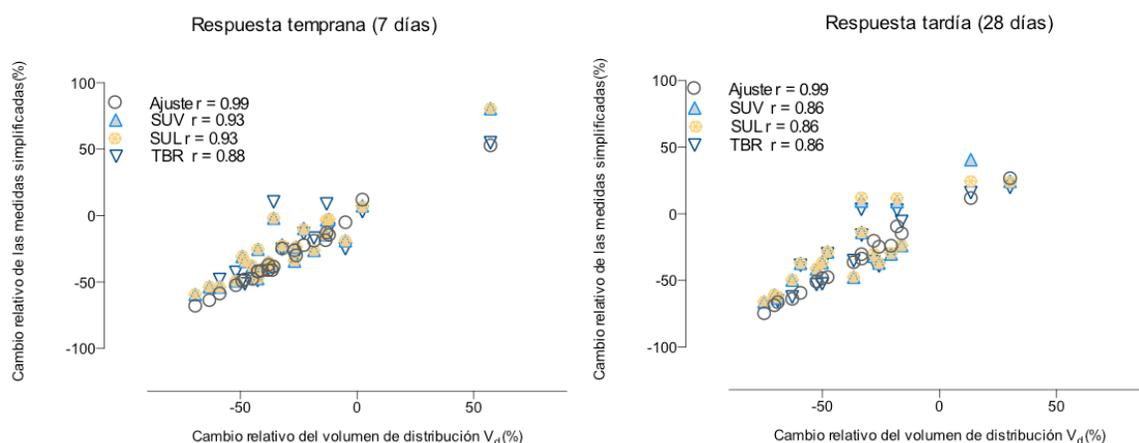


Figura 6.5. Análisis de Pearson de las correlaciones entre el cambio medido por el modelado compartimental y el medido con métodos simplificados.

Discusión

Los resultados muestran que es posible ajustar una curva a los datos de cada paciente (una curva por paciente), teniendo una excelente correlación entre los dos métodos, probando que, para este radiofármaco, es posible usar el ajuste propuesto como alternativa cuando las muestras de sangre son ruidosas, incompletas, presentan valores fuera de rango, o cuando no es posible adquirir suficientes muestras para hacer un análisis de metabolitos. La similitud entre medidas obtenidas permite la toma de menos muestras, reduciendo la incomodidad del paciente. El método podría ser usado también para otros radiofármacos, pero es necesario evaluar la viabilidad en cada uno de ellos.

El valor SUL es preferido sobre el valor SUV (Boellaard et al., 2014) debido a que en muchos estudios de respuesta a tratamiento, pueden ocurrir cambios significativos en el

peso corporal en corto tiempo, afectando las medidas. En este trabajo no se encontraron diferencias entre medir los cambios usando SUV y SUL, sin embargo, si las hay entre la respuesta temprana y la tardía, esto se debe a que, en ese periodo, los pacientes sufrieron cambios importantes de peso y en consecuencia en su índice de masa corporal. En este punto es importante resaltar la importancia de los métodos cuantitativos, pues las medidas simplificadas son susceptibles a grandes cambios en estudios de respuesta a tratamientos (Adams et al., 2010; Tomasi et al., 2012) como se muestra en este trabajo. Aunque en el caso de este radiofármaco en este tipo de cáncer, estos cambios son aceptables ($r = 0.86$) es necesario una validación por algún método cuantitativo si se requiere usar una medida simplificada antes de inferir resultados y tomar decisiones basadas en las mediciones.

Por otra parte, el valor TBR es el menos preciso para medir los cambios, esto era de esperarse debido a que un análisis basado solo en muestras de sangre sin analizar en sus componentes contiene metabolitos que afectan las medidas.

Es una realidad que el uso de modelos compartimentales no puede realizarse en la clínica diaria, por lo anterior es necesario validar métodos simplificados antes de usarse para garantizar que los cambios medidos son debidos a cambios fisiológicos y no a la variabilidad de los métodos.

En este trabajo se muestra que es posible usar métodos semicuantitativos para cuantificar los cambios debido a un tratamiento, siempre y cuando estén validados por estudios propios o por los citados en la literatura.

Conclusiones

Este trabajo es uno de los muchos esfuerzos que se hacen en muchos grupos de investigación para tratar de obtener valores cuantitativos, (o una asociación ellos) por medio de métodos simplificados que permitan medir cambios de forma confiable. En este trabajo se propuso un ajuste a los datos de entrada, lo cual repercute en la toma de menos muestras de sangre, haciendo al método menos invasivo.

Aunque una cuantificación completa es imposible (e incluso innecesaria) a nivel clínico, es imprescindible la validación de los métodos antes de usar métodos simplificados pues una cuantificación defectuosa puede repercutir enormemente en el paciente, tomando decisiones erróneas.

Productos de investigación

Avendaño Estrada, Arturo ; Kramer, G. ; Frings, V. ; Vález García, David ; Smit, E ; Lammertsma, A. A. ; Hoekstra, O ; Boellaard, Ronald. / Plasma to blood ratio derived parent fractions for robust plasma input based kinetic analysis of dynamic ¹⁸F-FLT PET studies in NSCLC cancer patients. In: European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging. 2017 ; Vol. 44, No. Suppl 2. pp. S442

Conclusiones generales y perspectivas a futuro

“Images Are More than Pictures, They Are Data”
Robert J. Gillies

En los últimos años, las distintas técnicas de imagenología médica han empezado a tener un rol importante como técnicas cuantitativas de diagnóstico, adaptándose a las tendencias mundiales de medicina personalizada de precisión. Por lo anterior, es necesario contar con métodos que permitan extraer la mayor cantidad de información cuantificable de una imagen tomográfica.

La medicina personalizada es cada vez más frecuente, aumentando la demanda de pruebas de diagnóstico para la óptima selección de tratamientos, basados en los datos obtenidos de los distintos métodos que ayuden a tomar decisiones y tratamientos ajustados a las necesidades específicas de cada paciente.

A nivel investigación, contar con métodos robustos de cuantificación que permitan inferir procesos fisiológicos es imprescindible para tener un mejor entendimiento de los procesos subyacentes bajo estudio. Los diversos métodos tomográficos permiten estudiar de forma no invasiva e *in vivo* una amplia gama de aspectos biológicos que no son posibles de explorar con otras técnicas, permitiendo localizar y estudiar anatómica y fisiológicamente modelos animales de diversas patologías.

Este es un trabajo de investigación sin precedente en México, con el que se pretende establecer una nueva línea de investigación en México basada en el análisis cuantitativo de imágenes (o mejor dicho, datos) PET. Se exploraron por primera vez en nuestro país los principales métodos de análisis usados en centros de excelencia PET a nivel mundial, permitiendo implementar esas técnicas a diversos proyectos de investigación.

Con el uso de técnicas cuantitativas, en este trabajo se proponen nuevas formas de analizar datos PET que permiten obtener más información de las imágenes o de forma más eficiente.

Cualquier método de cuantificación debe cumplir con la precisión suficiente para permitir comparar entre grupos; uno de los objetivos de este proyecto de tesis fue evaluar, la

reproducibilidad de distintos métodos de referencia mostrando la importancia de la elección de un método cuantitativo.

Una de las mayores aportaciones del trabajo es la propuesta de un método que permite obtener valores cuantitativos en tiempos cortos de adquisición (hasta 15 minutos), valores que nunca habían sido calculados con estudios de menos de una hora. La importancia de la optimización de los tiempos de adquisición radica en que, como ya se mencionó, las tendencias en medicina requieren el uso de medidas cuantitativas, medidas que no pueden adquirirse en protocolos estáticos, como los usados comúnmente en clínica. Por lo tanto, alternativas para cuantificar imágenes en tiempos cortos son de gran valía, aunado a lo anterior, protocolos dinámicos de larga adquisición de imágenes implican una gran variedad de inconvenientes: alteraciones de estados fisiológicos, número limitado de estudios con radiofármacos de vida media corta difíciles y caros de producir, incomodidad para el paciente, uso de tiempo cámara en un solo sujeto, afectando a sujetos que podrían usarlo en ese tiempo, por mencionar algunos.

El análisis cuantitativo de una imagen permite la obtención de datos que correlacionan de forma precisa con los estadios de la enfermedad del paciente, como se mostró en los capítulos 3, 4 y 5. Aunque estos métodos no se usan en clínica, deben implementarse metodologías similares a corto plazo para aprovechar al máximo el potencial de la técnica PET en beneficio del paciente, la creación de herramientas y métodos que faciliten esa tarea es trabajo que debe continuarse para difundir su uso.

Es importante resaltar que, antes de iniciar un protocolo de investigación en el que están involucradas imágenes PET, es necesario revisar los parámetros de adquisición y análisis reportados en la literatura existente usados para optimizar la cuantificación, en caso de no haber sido evaluados en la especie a estudiar es necesario investigar los parámetros óptimos. Una vez validados los métodos, y en caso de tener correlación con los valores obtenidos de la cuantificación, es permitido el uso de parámetros semicuantitativos como el valor SUV para la toma de decisiones médicas, en caso contrario no debe usarse como medida confiable de comparación.

La validación de nuevos modelos es un proceso que requiere un gran número de estudios, estudios que pueden ser obtenidos en diversos centros PET para generar una

base de datos compuesta de una gran cantidad de imágenes. Para tener bases de datos confiables, es necesario la creación de protocolos estandarizados que permitan comparar entre imágenes. Una vez que se tienen estandarizados los protocolos, es posible la colaboración multi-centro, lo cual permite el acceso a grandes cantidades de datos que con las herramientas computacionales disponibles pueden ser almacenadas, compartidas y analizadas de forma sencilla.

Con el uso cada vez más frecuente de algoritmos de inteligencia artificial, una nueva era en la imagenología está llegando; con herramientas como maquinas de aprendizaje, redes neuronales y aprendizaje profundo, es posible clasificar de forma automática y eficiente datos provenientes de una imagen tomográfica permitiendo un diagnóstico preciso, independiente del observador. Estos nuevos algoritmos requieren de datos y la guía del humano, el papel de los expertos en imagenología será programar y guiar estos nuevos algoritmos que tendrán un papel determinante en el diagnóstico, creando una medicina de precisión en imagenología. Explorar esas herramientas en nuestro país es de vital importancia debido a la fuerte inversión que se ha hecho en recursos humanos y tecnológicos que permiten la obtención de imágenes PET que tienen una gran cantidad de información oculta que es posible develar mediante métodos cuantitativos.

Bibliografía

- Adams, M.C., Turkington, T.G., Wilson, J.M., Wong, T.Z., 2010. A systematic review of the factors affecting accuracy of SUV measurements. *Am. J. Roentgenol.* <https://doi.org/10.2214/AJR.10.4923>
- Aerts, H.J.W.L., Velazquez, E.R., Leijenaar, R.T.H., Parmar, C., Haibe-kains, B., Grossmann, P., Cavalho, S., Bussink, J., Dekker, A., Rietveld, D., Hoebers, F., Rietbergen, M.M., Rene, C., Quackenbush, J., Gillies, R.J., Lambin, P., 2014. imaging using a quantitative radiomics approach. *Nat. Commun.* <https://doi.org/10.1038/ncomms5006>
- Alakurtti, K., Aalto, S., Johansson, J.J., Någren, K., Tuokkola, T., Oikonen, V., Laine, M., Rinne, J.O., 2011. Reproducibility of striatal and thalamic dopamine D2 receptor binding using [¹¹C]raclopride with high-resolution positron emission tomography. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 31, 155–65. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2010.64>
- Alakurtti, K., Johansson, J.J., Joutsa, J., Laine, M., Bäckman, L., Nyberg, L., Rinne, J.O., 2015. Long-term test–retest reliability of striatal and extrastriatal dopamine D2/3 receptor binding: study with [¹¹C]raclopride and high-resolution PET. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 35, 1199–1205. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2015.53>
- Alves, I.L., Willemsen, A.T., Dierckx, R.A., da Silva, A.M.M., Koole, M., 2017. Dual time-point imaging for post-dose binding potential estimation applied to a [¹¹C]raclopride PET dose occupancy study. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 37, 866–876. <https://doi.org/10.1177/0271678X16644463>
- Avendaño-Estrada, A., Ávila-Rodríguez, M.A., 2018. Reference tissue models in the assessment of ¹¹C-DTBZ binding to the VMAT2 in rat striatum: A test-retest reproducibility study. *Synapse.* <https://doi.org/10.1002/syn.22029>
- Barrio, J.R., Huang, S.-C., Yu, D.-C., Melega, W.P., Quintana, J., Cherry, S.R., Jacobson, A., Namavari, M., Satyamurthy, N., Phelps, M.E., 1996. Radiofluorinated L- m - Tyrosines: New In-Vivo Probes for Central Dopamine Biochemistry. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 16, 667–678. <https://doi.org/10.1097/00004647-199607000-00018>
- Ben-Haim, S., Ell, P., 2009. 18F-FDG PET and PET/CT in the Evaluation of Cancer Treatment Response. *J. Nucl. Med.* 50, 88–99. <https://doi.org/10.2967/jnumed.108.054205>
- Bentourkia, M., Zaidi, H., 2007. Tracer Kinetic Modeling in PET. *PET Clin.* <https://doi.org/10.1016/j.cpet.2007.08.003>
- Boellaard, R., 2011. Need for Standardization of 18F-FDG PET/CT for Treatment Response Assessments. *J. Nucl. Med.* 52, 93S–100S. <https://doi.org/10.2967/jnumed.110.085662>
- Boellaard, R., Delgado-Bolton, R., Oyen, W.J.G., Giammarile, F., Tatsch, K., Eschner, W., Verzijlbergen, F.J., Barrington, S.F., Pike, L.C., Weber, W.A., Stroobants, S., Delbeke, D., Donohoe, K.J., Holbrook, S., Graham, M.M., Testanera, G., Hoekstra, O.S., Zijlstra, J., Visser, E., Hoekstra, C.J., Pruim, J., Willemsen, A., Arends, B., Kotzerke, J., Bockisch, A., Beyer, T., Chiti, A., Krause, B.J., 2014. FDG PET/CT: EANM procedure guidelines for tumour imaging: version 2.0. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* <https://doi.org/10.1007/s00259-014-2961-x>
- Bohnen, N.I., Albin, R.L., Koeppe, R. a, Wernette, K. a, Kilbourn, M.R., Minoshima, S.,

- Frey, K. a, 2006. Positron emission tomography of monoaminergic vesicular binding in aging and Parkinson disease. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 26, 1198–1212. <https://doi.org/10.1038/sj.jcbfm.9600276>
- Cannon, D.M., Klaver, J.M., Peck, S.A., Rallis-Voak, D., Erickson, K., Drevets, W.C., 2009. Dopamine Type-1 Receptor Binding in Major Depressive Disorder Assessed Using Positron Emission Tomography and [¹¹C]NNC-112. *Neuropsychopharmacology* 34, 1277–1287. <https://doi.org/10.1038/npp.2008.194>
- Chaddad, A., Desrosiers, C., Toews, M., 2017. Multi-scale radiomic analysis of sub-cortical regions in MRI related to autism, gender and age. *Sci. Rep.* 7. <https://doi.org/10.1038/srep45639>
- Chan, G.L., Holden, J.E., Stoessl, a J., Samii, a, Doudet, D.J., Dobko, T., Morrison, K.S., Adam, M., Schulzer, M., Calne, D.B., Ruth, T.J., 1999. Reproducibility studies with ¹¹C-DTBZ, a monoamine vesicular transporter inhibitor in healthy human subjects. *J. Nucl. Med.* 40, 283–289.
- Chan, G.L.Y., Holden, J.E., Stoessl, A.J., Samii, A., Doudet, D.J., Dobko, T., Morrison, K.S., Adam, M., Schulzer, M., Calne, D.B., Ruth, T.J., 1999. Reproducibility Studies with ¹¹C-DTBZ, a Monoamine Vesicular Transporter Inhibitor in Healthy Human Subjects. *J. Nucl. Med.* 40, 283–289.
- Chang, Y.S., Jeong, J.M., Yoon, Y.H., Kang, W.J., Lee, S.J., Lee, D.S., Chung, J.K., Lee, M.C., 2005. Biological properties of 2'-[¹⁸F]fluoroflumazenil for central benzodiazepine receptor imaging. *Nucl. Med. Biol.* 32, 263–268. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2004.12.004>
- Chen, R., Snyder, M., 2013. Promise of personalized omics to precision medicine. *Wiley Interdiscip. Rev. Syst. Biol. Med.* <https://doi.org/10.1002/wsbm.1198>
- Chen, T.-J., Chuang, K.-S., Wu, J., Chen, S.C., Hwang, I.-M., Jan, M.-L., 2003. A novel image quality index using Moran I statistics. *Phys. Med. Biol.* 48, N131-7.
- Cook, G.J.R., Siddique, M., Taylor, B.P., Yip, C., Chicklore, S., Goh, V., 2014. Radiomics in PET: Principles and applications. *Clin. Transl. Imaging.* <https://doi.org/10.1007/s40336-014-0064-0>
- Cumming, P., Léger, G.C., Kuwabara, H., Gjedde, A., 1993. Pharmacokinetics of plasma 6-[¹⁸F]fluoro-L-3,4-dihydroxyphenylalanine ([¹⁸F]Fdopa) in humans. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 13, 668–75. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.1993.85>
- Cunningham, V.J., Gunn, R.N., Matthews, J.C., 2004. Quantification in positron emission tomography for research in pharmacology and drug development. *Nucl. Med. Commun.* 25, 643–646. <https://doi.org/10.1097/01.mnm.0000134330.38536.bc>
- DaSilva, J.N., Kilbourn, M.R., 1992. In vivo binding of [¹¹C]tetrabenazine to vesicular monoamine transporters in mouse brain. *Life Sci.* 51, 593–600. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(92\)90228-H](https://doi.org/10.1016/0024-3205(92)90228-H)
- DeJesus, O.T., Van Moffaert, G.J.C., Friedman, A.M., 1987. Synthesis of [¹¹C]SCH 23390 for dopamine D1 receptor studies. *Int. J. Radiat. Appl. Instrumentation. Part 38*, 345–348. [https://doi.org/10.1016/0883-2889\(87\)90022-0](https://doi.org/10.1016/0883-2889(87)90022-0)
- Dunn, J.T., Clark-Papasavas, C., Marsden, P., Baker, S., Cleij, M., Kapur, S., Kessler, R., Howard, R., Reeves, S.J., 2013. Establishing Test–Retest Reliability of an Adapted [¹⁸F]Fallypride Imaging Protocol in Older People. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 33, 1098–1103. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2013.55>
- Eary, J.F., 2008. PET Imaging for Treatment Response in Cancer. *PET Clin.* <https://doi.org/10.1016/j.cpet.2008.10.001>

- Egerton, A., Demjaha, A., McGuire, P., Mehta, M.A., Howes, O.D., 2010. The test-retest reliability of 18F-DOPA PET in assessing striatal and extrastriatal presynaptic dopaminergic function. *Neuroimage* 50, 524–531. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2009.12.058>
- Endres, C.J., Kolachana, B.S., Saunders, R.C., Su, T., Weinberger, D., Breier, A., Eckelman, W.C., Carson, R.E., 1997. Kinetic Modeling of [11 C]Raclopride: Combined PET-Microdialysis Studies. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 17, 932–942. <https://doi.org/10.1097/00004647-199709000-00002>
- Erlundsson, K., 2011. Tracer kinetic modeling: Basics and concepts, in: *Basic Sciences of Nuclear Medicine*. pp. 333–351. https://doi.org/10.1007/978-3-540-85962-8_16
- Ettrup, A., Svarer, C., McMahon, B., da Cunha-Bang, S., Lehel, S., Møller, K., Dyssegaard, A., Ganz, M., Beliveau, V., Jørgensen, L.M., Gillings, N., Knudsen, G.M., 2016. Serotonin 2A receptor agonist binding in the human brain with [11C]Cimbi-36: Test-retest reproducibility and head-to-head comparison with the antagonist [18F]altanserin. *Neuroimage* 130, 167–174. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2016.02.001>
- Farde, L., Halldin, C., Stone-Elander, S., Sedvall, G., 1987. PET analysis of human dopamine receptor subtypes using 11C-SCH 23390 and 11C-raclopride. *Psychopharmacology (Berl)*. 92, 278–284. <https://doi.org/10.1007/BF00210831>
- Frings, V., Yaqub, M., Hoyng, L.L., Golla, S.S. V, Windhorst, A.D., Schuit, R.C., Lammertsma, A.A., Hoekstra, O.S., Smit, E.F., Boellaard, R., Consortium, for the Q.-C., 2014. Assessment of Simplified Methods to Measure 18F-FLT Uptake Changes in EGFR-Mutated Non-Small Cell Lung Cancer Patients Undergoing EGFR Tyrosine Kinase Inhibitor Treatment. *J. Nucl. Med.* 55, 1417–1423. <https://doi.org/10.2967/jnumed.114.140913>
- Gunn, R.N., Gunn, S.R., Cunningham, V.J., 2001. Positron emission tomography compartmental models. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 21, 635–52. <https://doi.org/10.1097/00004647-200106000-00002>
- Gunn, R.N., Lammertsma, A.A., Hume, S.P., Cunningham, V.J., 1997. Parametric imaging of ligand-receptor binding in PET using a simplified reference region model. *Neuroimage* 6, 279–287. <https://doi.org/10.1006/nimg.1997.0303>
- Hammers, A., Allom, R., Koeppe, M.J., Free, S.L., Myers, R., Lemieux, L., Mitchell, T.N., Brooks, D.J., Duncan, J.S., 2003. Three-dimensional maximum probability atlas of the human brain, with particular reference to the temporal lobe. *Hum. Brain Mapp.* 19, 224–247. <https://doi.org/10.1002/hbm.10123>
- Hodolic, M., Topakian, R., Pichler, R., 2016. 18F-fluorodeoxyglucose and 18F-flumazenil positron emission tomography in patients with refractory epilepsy. *Radiol. Oncol.* <https://doi.org/10.1515/raon-2016-0032>
- Hsiao, I.-T., Weng, Y.-H., Hsieh, C.-J., Lin, W.-Y., Wey, S.-P., Kung, M.-P., Yen, T.-C., Lu, C.-S., Lin, K.-J., 2014. Correlation of Parkinson Disease Severity and ¹⁸F-DTBZ Positron Emission Tomography. *JAMA Neurol.* 71, 758. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2014.290>
- Ichise, M., Ballinger, J.R., Golan, H., Vines, D., Luong, A., Tsai, S., Kung, H.F., 1996. Noninvasive Quantification of Dopamine D2 Receptors with Iodine-123-IBF SPECT. *J Nucl Med* 37, 513–520.
- Ichise, M., Liow, J.-S., Lu, J.-Q., Takano, A., Model, K., Toyama, H., Suhara, T., Suzuki, K., Innis, R.B., Carson, R.E., 2003. Linearized reference tissue parametric imaging

- methods: application to [11C]DASB positron emission tomography studies of the serotonin transporter in human brain. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 23, 1096–1112. <https://doi.org/10.1097/01.WCB.0000085441.37552.CA>
- Innis, R.B., Cunningham, V.J., Delforge, J., Fujita, M., Gjedde, A., Gunn, R.N., Holden, J., Houle, S., Huang, S.C., Ichise, M., Iida, H., Ito, H., Kimura, Y., Koeppe, R.A., Knudsen, G.M., Knuuti, J., Lammertsma, A.A., Laruelle, M., Logan, J., Maguire, R.P., Mintun, M.A., Morris, E.D., Parsey, R., Price, J.C., Slifstein, M., Sossi, V., Suhara, T., Votaw, J.R., Wong, D.F., Carson, R.E., 2007. Consensus nomenclature for in vivo imaging of reversibly binding radioligands. *J Cereb Blood Flow Metab* 27, 1533–1539. <https://doi.org/10.1038/sj.jcbfm.9600493>
- Ishibashi, K., Ishii, K., Oda, K., Mizusawa, H., Ishiwata, K., 2010. Competition between 11C-raclopride and endogenous dopamine in Parkinson's disease. *Nucl. Med. Commun.* 31, 159–66. <https://doi.org/10.1097/MNM.0b013e328333e3cb>
- Jenny Ceccarini Michel Koole, Tom Muylle, Guy Bormans, Stephan Claes, Koen Van Laere, E.V., 2012. Optimized In Vivo Detection of Dopamine Release Using 18F-Fallypride PET. *J Nucl Med* 53, 1565–1572. <https://doi.org/10.2967/jnumed.111.099416>
- Jones, T., Rabiner, E.A., 2012. The development, past achievements, and future directions of brain PET. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 32, 1426–54. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2012.20>
- Juhasz, C., Nagy, F., Watson, C., da Silva, E.A., Muzik, O., Chugani, D.C., Shah, J., Chugani, H.T., 1999. Glucose and [11C]flumazenil positron emission tomography abnormalities of thalamic nuclei in temporal lobe epilepsy. *Neurology* 53, 2037–2037. <https://doi.org/10.1212/WNL.53.9.2037>
- Kaller, S., Rullmann, M., Patt, M., Becker, G.A., Luthardt, J., Girbardt, J., Meyer, P.M., Werner, P., Barthel, H., Bresch, A., Fritz, T.H., Hesse, S., Sabri, O., 2017. Test–retest measurements of dopamine D1-type receptors using simultaneous PET/MRI imaging. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* 44, 1025–1032. <https://doi.org/10.1007/s00259-017-3645-0>
- Karimi, M., Tian, L., Brown, C.A., Flores, H.P., Loftin, S.K., Videen, T.O., Moerlein, S.M., Perlmutter, J.S., 2013. Validation of nigrostriatal positron emission tomography measures: Critical limits. *Ann. Neurol.* 73, 390–396. <https://doi.org/10.1002/ana.23798>
- Keyes, J.W., 1995. SUV: standard uptake or silly useless value? *J. Nucl. Med.* 36, 1836–1839.
- Kim, J.S., Ichise, M., Sangare, J., Innis, R.B., 2006. PET Imaging of Serotonin Transporters with [11C]DASB: Test-Retest Reproducibility Using a Multilinear Reference Tissue Parametric Imaging Method. *J. Nucl. Med.* 47, 208–214. <https://doi.org/47/2/208> [pii]
- Koeppe, M.J., Labbé, C., Richardson, M.P., Brooks, D.J., Van Paesschen, W., Cunningham, V.J., Duncan, J.S., 1997. Regional hippocampal [11C]flumazenil PET in temporal lobe epilepsy with unilateral and bilateral hippocampal sclerosis. *Brain* 120, 1865–1876. <https://doi.org/10.1093/brain/120.10.1865>
- Koeppe, R.A., Frey, K.A., Kume, A., Albin, R., Kilbourn, M.R., Kuhl, D.E., 1997. Equilibrium versus compartmental analysis for assessment of the vesicular monoamine transporter using (+)-alpha-[C-11]dihydrotetrabenazine (DTBZ) and positron emission tomography. *J Cereb Blood Flow Metab* 17, 919–931.

- Kotrotsou, A., Zinn, P.O., Colen, R.R., 2016. Radiomics in Brain Tumors: An Emerging Technique for Characterization of Tumor Environment. *Magn. Reson. Imaging Clin. N. Am.* <https://doi.org/10.1016/j.mric.2016.06.006>
- L. Zuñiga-Meneses, A. Avendaño-Estrada, M.A.A.-R., 2014. Standardized Uptake Values of Liver in Whole Body FDG-PET/CT: An Interpatient Variability Study. *Int. J. Nucl. Med. Mol. Imag.* 3, 21–25.
- Lambin, P., Rios-Velazquez, E., Leijenaar, R., Carvalho, S., Van Stiphout, R.G.P.M., Granton, P., Zegers, C.M.L., Gillies, R., Boellard, R., Dekker, A., Aerts, H.J.W.L., 2012. Radiomics: Extracting more information from medical images using advanced feature analysis. *Eur. J. Cancer* 48, 441–446. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2011.11.036>
- Lammertsma, A.A., 2017. Forward to the Past: The Case for Quantitative PET Imaging. *J. Nucl. Med.* 58, 1019–1024. <https://doi.org/10.2967/jnumed.116.188029>
- Lammertsma, A.A., Bench, C.J., Hume, S.P., Osman, S., Gunn, K., Brooks, D.J., Frackowiak, R.S., 1996. Comparison of methods for analysis of clinical [¹¹C]raclopride studies. *J Cereb Blood Flow Metab* 16, 42–52. <https://doi.org/10.1097/00004647-199601000-00005>
- Lammertsma, A.A., Bench, C.J., Hume, S.P., Osman, S., Gunn, K., Brooks, D.J., Frackowiak, R.S.J., 1996. Comparison of Methods for Analysis of Clinical [¹¹C]Raclopride Studies. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 16, 42–52. <https://doi.org/10.1097/00004647-199601000-00005>
- Lammertsma, A.A., Hume, S.P., 1996. Simplified reference tissue model for PET receptor studies. *Neuroimage* 4, 153–8. <https://doi.org/10.1006/nimg.1996.0066>
- Leenders, K.L., Salmon, E.P., Tyrrell, P., Perani, D., Brooks, D.J., Sager, H., Jones, T., Marsden, C.D., Frackowiak, R.S.J., 1990. The nigrostriatal dopaminergic system assessed in vivo by positron emission tomography in healthy volunteer subjects and patients with Parkinson's disease. *Arch. Neurol.* 47, 1290–8. <https://doi.org/10.1001/archneur.1990.00530120034007>
- Li, F., Joergensen, J.T., Hansen, A.E., Kjaer, A., 2014. Kinetic modeling in PET imaging of hypoxia. *Am J Nucl Med Mol Imaging* 4, 490–506. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1313875>
- Loane, C., Politis, M., 2011. Positron emission tomography neuroimaging in Parkinson's disease. *Am. J. Transl. Res.* <https://doi.org/Export Date 10 October 2016> Correspondence Address Politis, M.; Centre for Neuroscience, Division of Experimental Medicine, Faculty of Medicine, Hammersmith Hospital, Imperial College London, DuCane Road, London W12 0NN, United Kingdom; email: mariospolit@imperial.ac.uk Chemicals/CAS 6 fluorodopa f 18, 92812-82-3; 8 chloro 2,3,4,5 tetrahydro 3 methyl 5 phenyl 1h 3 benzazepin 7 ol hydrogen maleate, 87134-87-0; carbon 11, 14333-33-6 References Braak, H., Ghebremedhin, E., Rüb, U., Bratzke, H., Logan, J., Fowler, J.S., Volkow, N.D., Wang, G.J., Ding, Y.S., Alexoff, D.L., 1996. Distribution volume ratios without blood sampling from graphical analysis of PET data. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 16, 834–840. <https://doi.org/10.1097/00004647-199609000-00008>
- Logan, J., Fowler, J.S., Volkow, N.D., Wolf, A.P., Dewey, S.L., Schlyer, D.J., MacGregor, R.R., Hitzemann, R., Bendriem, B., Gatley, S.J., 1990. Graphical analysis of reversible radioligand binding from time-activity measurements applied to [¹¹C-methyl]-(-)-

- cocaine PET studies in human subjects. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 10, 740–7. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.1990.127>
- Mitterhauser, M., Wadsak, W., Wabnegger, L., Mien, L.-K., Tögel, S., Langer, O., Sieghart, W., Viernstein, H., Kletter, K., Dudczak, R., 2004. Biological evaluation of 2'-[¹⁸F]fluoroflumazenil ([¹⁸F]FFMZ), a potential GABA receptor ligand for PET. *Nucl. Med. Biol.* 31. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2003.09.003>
- Mukherjee, J., Constantinescu, C.C., Hoang, A.T., Jerjian, T., Majji, D., Pan, M.-L., 2015. Dopamine D3 receptor binding of (18)F-fallypride: Evaluation using in vitro and in vivo PET imaging studies. *Synapse* 69, 577–91. <https://doi.org/10.1002/syn.21867>
- Narang, S., Lehrer, M., Yang, D., Lee, J., Rao, A., 2016. Radiomics in glioblastoma: current status, challenges and potential opportunities. *Transl. Cancer Res.* 5, 383–397. <https://doi.org/10.21037/tcr.2016.06.31>
- Odano, I., Halldin, C., Karlsson, P., Varrone, A., Airaksinen, A.J., Krasikova, R.N., Farde, L., 2009. [¹⁸F]Flumazenil binding to central benzodiazepine receptor studies by PET. - Quantitative analysis and comparisons with [¹¹C]flumazenil -. *Neuroimage* 45, 891–902. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2008.12.005>
- Parekh, V., Jacobs, M.A., 2016. Radiomics: a new application from established techniques. *Expert Rev. Precis. Med. Drug Dev.* 1, 207–226. <https://doi.org/10.1080/23808993.2016.1164013>
- Parsey, R. V., Slifstein, M., Hwang, D.R., Abi-Dargham, A., Simpson, N., Mawlawi, O., Guo, N.N., Van Heertum, R., Mann, J.J., Laruelle, M., 2000. Validation and reproducibility of measurement of 5-HT_{1A} receptor parameters with [carbonyl-¹¹C]WAY-100635 in humans: comparison of arterial and reference tissue input functions. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 20, 1111–33. <https://doi.org/10.1097/00004647-200007000-00011>
- Patlak, C.S., Blasberg, R.G., 1985. Graphical evaluation of blood to brain barrier transfer constants from multiple time uptake data. Generalizations. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 5, 584–590. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.1985.87>
- Pavese, N., Evans, A.H., Tai, Y.F., Hotton, G., Brooks, D.J., Lees, A.J., Piccini, P., 2006. Clinical correlates of levodopa-induced dopamine release in Parkinson disease: A PET study. *Neurology* 67, 1612–1617. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000242888.30755.5d>
- Rathore, C., Dickson, J.C., Teotónio, R., Ell, P., Duncan, J.S., 2014. The utility of 18F-fluorodeoxyglucose PET (FDG PET) in epilepsy surgery. *Epilepsy Res.* 108, 1306–1314. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2014.06.012>
- Ryvlin, P., Bouvard, S., Le Bars, D., De Lamérie, G., Grégoire, M.C., Kahane, P., Froment, J.C., Mauguière, F., 1998. Clinical utility of flumazenil-PET versus [¹⁸F]fluorodeoxyglucose-PET and MRI in refractory partial epilepsy. A prospective study in 100 patients. *Brain* 121, 2067–2081. <https://doi.org/10.1093/brain/121.11.2067>
- Salinas, C. a, Searle, G.E., Gunn, R.N., 2014. The simplified reference tissue model: model assumption violations and their impact on binding potential. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 35, 1–8. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2014.202>
- Salmi, E., Aalto, S., Hirvonen, J., Långsjö, J.W., Maksimow, A.T., Oikonen, V., Metsähonkala, L., Virkkala, J., Någren, K., Scheinin, H., 2008. Measurement of GABA_A receptor binding in vivo with [¹¹C]Flumazenil: A test-retest study in healthy subjects. *Neuroimage* 41, 260–269. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2008.02.035>

- Sarikaya, I., 2015. PET studies in epilepsy. *Am. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* 5, 416–30.
- Slifstein, M., Kegeles, L.S., Gonzales, R., Frankle, W.G., Xu, X., Laruelle, M., Abi-Dargham, A., 2007. [¹¹C]NNC 112 selectivity for dopamine D1 and serotonin 5-HT(2A) receptors: a PET study in healthy human subjects. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 27, 1733–1741. <https://doi.org/10.1038/sj.jcbfm.9600468>
- Slifstein, M., Xu, X., Abi-Dargham, A., 2015. A regression method to estimate binding potential when all data are not available from the moment of injection. *J. Nucl. Med.* 56, 154.
- Spencer, S.S., 2002. Neural networks in human epilepsy: Evidence of and implications for treatment. *Epilepsia* 43, 219–227. <https://doi.org/10.1046/j.1528-1157.2002.26901.x>
- Stoessl, A.J., 2007. Positron emission tomography in premotor Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat. Disord.* 13 Suppl 3, S421-4. [https://doi.org/10.1016/S1353-8020\(08\)70041-5](https://doi.org/10.1016/S1353-8020(08)70041-5)
- Tantawy, M.N., Jones, C.K., Baldwin, R.M., Ansari, M.S., Conn, P.J., Kessler, R.M., Peterson, T.E., 2009. [¹⁸F]Fallypride dopamine D2 receptor studies using delayed microPET scans and a modified Logan plot. *Nucl. Med. Biol.* 36, 931–940. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2009.06.007>
- Tomasi, G., Turkheimer, F., Aboagye, E., 2012. Importance of quantification for the analysis of PET data in oncology: Review of current methods and trends for the future. *Mol. Imaging Biol.* <https://doi.org/10.1007/s11307-011-0514-2>
- Tong, J., Boileau, I., Furukawa, Y., Chang, L.-J., Wilson, A.A., Houle, S., Kish, S.J., 2011. Distribution of Vesicular Monoamine Transporter 2 Protein in Human Brain: Implications for Brain Imaging Studies. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 31, 2065–2075. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2011.63>
- Tziortzi, A.C., Haber, S.N., Searle, G.E., Tsoumpas, C., Long, C.J., Shotbolt, P., Douaud, G., Jbabdi, S., Behrens, T.E.J., Rabiner, E.A., Jenkinson, M., Gunn, R.N., 2014. Connectivity-based functional analysis of dopamine release in the striatum using diffusion-weighted MRI and positron emission tomography. *Cereb. Cortex* 24, 1165–1177. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhs397>
- Tziortzi, A.C., Searle, G.E., Tzimopoulou, S., Salinas, C., Beaver, J.D., Jenkinson, M., Laruelle, M., Rabiner, E.A., Gunn, R.N., 2011. Imaging dopamine receptors in humans with [¹¹C]-(+)-PHNO: Dissection of D3 signal and anatomy. *Neuroimage* 54, 264–277. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2010.06.044>
- Vallièrès, M., Freeman, C.R., Skamene, S.R., El Naqa, I., 2015. A radiomics model from joint FDG-PET and MRI texture features for the prediction of lung metastases in soft-tissue sarcomas of the extremities. *Phys. Med. Biol.* 60, 5471–5496. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/60/14/5471>
- Verhoeff, N.P.L.G., 1999. Radiotracer imaging of dopaminergic transmission in neuropsychiatric disorders. *Psychopharmacology (Berl)*. <https://doi.org/10.1007/s002130051163>
- Visser, E.P., Boerman, O.C., Oyen, W.J.G., 2010. SUV: From Silly Useless Value to Smart Uptake Value. *J. Nucl. Med.* 51, 173–175. <https://doi.org/10.2967/jnumed.109.068411>
- Vivash, L., Gregoire, M.-C., Lau, E.W., Ware, R.E., Binns, D., Roselt, P., Bouilleret, V., Myers, D.E., Cook, M.J., Hicks, R.J., O'Brien, T.J., 2013. ¹⁸F-Flumazenil: A -Aminobutyric Acid A-Specific PET Radiotracer for the Localization of Drug-Resistant Temporal Lobe Epilepsy. *J. Nucl. Med.* 54, 1270–1277. <https://doi.org/10.2967/jnumed.112.107359>

- Wahl, L., Nahmias, C., 1996. Modeling of fluorine-18-6-fluoro-L-Dopa in humans. *J. Nucl. Med.* 37, 432–7.
- Wahl, R.L., Jacene, H., Kasamon, Y., Lodge, M.A., 2009. From RECIST to PERCIST: Evolving Considerations for PET Response Criteria in Solid Tumors. *J. Nucl. Med.* 50, 122S–150S. <https://doi.org/10.2967/jnumed.108.057307>
- Zhou, M., Scott, J., Chaudhury, B., Hall, L., Goldgof, D., Yeom, K.W., Iv, M., Ou, Y., Kalpathy-Cramer, J., Napel, S., Gillies, R., Gevaert, O., Gatenby, R., 2017. Radiomics in Brain Tumor: Image Assessment, Quantitative Feature Descriptors, and Machine-Learning Approaches. *Am. J. Neuroradiol.* <https://doi.org/10.3174/ajnr.A5391>

Reference tissue models in the assessment of ^{11}C -DTBZ binding to the VMAT2 in rat striatum: A test-retest reproducibility study

Arturo Avendaño-Estrada | Miguel Angel Ávila-Rodríguez 

División de Investigación, Unidad
Radiofarmacia-Ciclotrón, Universidad
Nacional Autónoma de México, Mexico City,
México

Correspondence

Miguel A. Ávila-Rodríguez, Unidad
Radiofarmacia-Ciclotrón, División de
Investigación, Facultad de Medicina,
UNAM, Torre de Investigación, P.B., Ciudad
Universitaria, Circ. Exterior, México,
D.F., 04510, Mexico.
Email: avilarod@uwalumni.com

Funding information

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología
(CONACYT), Contract/Grant Number:
245297; Universidad Nacional Autónoma
de México- Dirección General de Asuntos
del Personal Académico-PAPIIT, Contract/
Grant Number: IT201115

Abstract

Dopaminergic PET imaging is a useful tool to assess the dopaminergic integrity and to follow-up longitudinal studies. The aim of this study was to evaluate the reliability and reproducibility of different reference tissue-based methods to determine the non-displaceable binding potential (BP_{ND}) as a quantitative measure of ^{11}C -DTBZ binding to the VMAT2 in rat striatum using cerebellum as reference region. Eight healthy Wistar rats underwent two microPET scans at the age of 12 (test) and 20 weeks (retest). BP_{ND} was determined using the simplified reference tissue model, Logan reference tissue model, and multilinear reference tissue models (MRTMo and MRTM2). Additionally, a striatal-to-cerebellar-ratio (SCR) analysis was performed. The reproducibility between the two scans was assessed using the interclass correlation coefficients (ICC) and the variability index. Repeatability indices showed acceptable ICC = 0.66 (SCR) to excellent ICC = 0.98 (MRTM2) reliability for this study and a variability ranging from 12.26% (SCR) to 3.28% (MRTM2). To the best of our knowledge, this is the first report on longitudinal studies for ^{11}C -DTBZ in rats using reference tissue methods. Excellent intersubject and intrasubject reproducibility was obtained with the multilinear reference MRTM2, suggesting this as the best method to compare longitudinal studies, whereas the SCR method had poor reliability. Logan method, however, is a method simple to compute that shows accurate reproducibility with a reasonable level of inter- and intra-subject variability allowing crossover studies to follow-up the uptake of ^{11}C -DTBZ in rat striatum.

KEYWORDS

^{11}C -DTBZ, PET quantification, reference tissue methods, test-retest

1 | INTRODUCTION

Several dopamine-specific radiopharmaceuticals for positron emission tomography (PET) imaging have been developed to assess the integrity of the dopaminergic system in vivo (Stoessl, 2007), allowing to diagnose and to follow-up the evolution of neurological diseases such as Parkinson's disease (PD) and Huntington's disease (Elsinga, Hatano, & Ishiwata, 2006). Dopaminergic radiopharmaceuticals are useful in both preclinical and clinical applications (Loane & Politis, 2011). The dopaminergic pathway integrity has been assessed by PET using presynaptic radioligands such as ^{18}F -DOPA (Cumming, Léger, Kuwabara, & Gjedde, 1993) and ^{11}C -DTBZ (DaSilva & Kilbourn, 1992), postsynaptic radioligands including ^{11}C -raclopride (Lammertsma et al., 1996), ^{11}C -SCH23390 (Farde, Halldin, Stone-Elander, & Sedvall, 1987), ^{11}C -NNC112 (Slifstein et al., 2007), and Fallypride (Mukherjee et al., 2015); radiopharmaceuticals such as ^{11}C -cocaine (Gatley, Volkow, Fowler, Dewey, & Logan, 1995) and ^{11}C -CFT (Gao et al., 2015) targeting the dopamine transporter have also been used for this purpose.

PET brain imaging with ^{11}C -DTBZ is an excellent, frequently used indicator of presynaptic dopaminergic integrity (DaSilva & Kilbourn, 1992; Stoessl, 2007). ^{11}C -DTBZ is a radioligand specific for the vesicular monoamine transporter type 2 (VMAT2; DaSilva & Kilbourn, 1992) present in all monoaminergic terminals. In the striatum, the binding sites are predominantly in dopaminergic terminals; this property provides a valuable way to measure in vivo changes in the dopaminergic system. PET dopaminergic imaging is also useful for the long-term follow-up of patients to quantify changes due to the natural advance of diseases, the efficacy of treatments or to compare between subject variation at the clinical and research level. At the research level, a variety of animal models have been developed to infer the pathogenesis, mechanisms of cell death, and to evaluate

therapeutic strategies (Tieu, 2011). Animal models of PD have proved highly effective in the understanding of the disease and the development of novel treatments (Duty & Jenner, 2011).

Given the important role of animal models and the advantages of noninvasive *in vivo* methods to evaluate possible changes in the dopaminergic systems due to treatments, it is necessary and important to account with quantifiable and robust methods that allow detecting changes due to the biological process, not to the method of measurement. To accurately and reliably measure dopaminergic integrity changes, it is necessary the implementation of quantitative and reproducible methods to obtain information that correlates with the pharmacokinetics of the radiotracer (Gunn, Gunn, & Cunningham, 2001).

Full PET quantification requires compartmental modeling and blood sampling to accurately describe parameters involved in the pharmacokinetics of the tracer. Fortunately, for some tracers as ^{11}C -DTBZ, noninvasive reference tissue methods have been developed, allowing to obtain quantitative values without the need of blood sampling and time-consuming metabolite measurements (Lammertsma & Hume, 1996). A frequently and trustworthy value used to measure dopaminergic integrity is the nondisplaceable Binding Potential (BP_{ND} ; Innis et al., 2007) defined as:

$$\text{BP}_{\text{ND}} = \frac{V_{\text{T}}}{V_{\text{ND}}} - 1 = \text{DVR} - 1 \quad (1)$$

where V_{T} is the distribution volume of total ligand uptake in tissue and V_{ND} is the distribution volume of nondisplaceable compartment, both of them relative to the total concentration of ligand in plasma. The term $V_{\text{T}}/V_{\text{ND}}$ is termed the distribution volume ratio (DVR). Note that BP_{ND} does not require blood sampling as it can be calculated from only brain data using a reference region or tissue without specific binding of the ligand. Different methods have been proposed to obtain the BP_{ND} using reference tissue models such as the simplified reference tissue model (SRTM) of Lammertsma and Hume (Gunn, Lammertsma, Hume, & Cunningham, 1997; Lammertsma et al., 1996), the Logan reference tissue model (LRTM) derived from the Logan plot (Logan et al., 1996), and the multilinear reference tissue models (MRTM) of Ichise et al. (2003, 1996).

In contrast to the originally described reference tissue model that fits four parameters, the SRTM reduces the model to three parameters assuming that the fractional blood volume is the same in both the target and reference tissues (Lammertsma & Hume, 1996). The noninvasive LRTM, however, is a linear regression equation that derives DVR values as the regression slope at a certain equilibration time t^* using a reference region without specific binding (Logan et al., 1996); LRTM is a modification of the original Logan model (Logan et al., 1990). The original MRTM (termed MRTMo) is a further development of the Logan plot method aiming to minimize the bias induced by noise in the measurements (Ichise et al., 1996). A two parameter version of MRTM (termed MRTM2) is obtained from the 3-parameter MRTM as described by Ichise et al. (2003). Because MRTM2 estimates fewer parameters, it is expected to be more stable than MRTMo, particularly at high-noise levels of voxel-based parametric imaging.

All previously described models assume that a reference region without specific binding exists and that the nondisplaceable distribution volume is the same for the region of interest and the reference region. These methods also require the acquisition of dynamic data starting from radiotracer administration. Typical tissues used as reference regions without specific binding for dopaminergic tracers are cerebellum and occipital cortex (Chan et al., 1999; Ishibashi, Robertson, Mandelkern, Morgan, & London, 2013).

Reliable and reproducible methodologies to evaluate the integrity of dopaminergic terminals are mandatory in order to obtain trustworthy results in preclinical and clinical applications. To the best of our knowledge, there are not any reports on longitudinal studies for ^{11}C -DTBZ in rats using reference tissue methods. The aim of this research was to evaluate the reliability and reproducibility of different reference tissue methods to calculate BP_{ND} by test-retest analysis of the uptake of ^{11}C -DTBZ in rat striatum over a 2-month period.

2 | METHODS

2.1 | Radiochemistry

(+)- α - ^{11}C dihydrotetrabenazine (^{11}C -DTBZ) was synthesized at the Unidad Radiofarmacia-Ciclotrón, Facultad de Medicina, UNAM, in a Tracerlab FX_C-Pro synthesis module (GE Healthcare, Uppsala, Sweden). The synthesis was adapted from the method reported by Shao et al. (2011). Briefly, ^{11}C CO_2 was produced by the $^{14}\text{N}(\text{p},\alpha)^{11}\text{C}$ nuclear reaction with the Eclipse HP cyclotron (Siemens/CTI, Knoxville, TN) using 11 MeV proton irradiation (40 min, 60 μA) of nitrogen gas containing 2% oxygen. ^{11}C methyl iodide (^{11}C CH_3I) was synthesized from ^{11}C CO_2 in the synthesis module using standard methods. Methylation of (+)-9-O-Desmethyl- α -dihydrotetrabenazine (ABX Advanced Biomedical Compounds, Radeberg, Germany) with ^{11}C CH_3I was performed at room temperature in DMSO (500 μL) and KOH (3 M, 4 μL). The reaction mixture was diluted with 800 μL of mobile phase (20 mM NaH_2PO_4 : EtOH, 85:15) and purified by HPLC using a C8 reverse-phase semipreparative column. The product fraction was diluted with isotonic saline and was passed through a 0.22 mm sterilizing filter into a sterile dose vial. The average radiochemical yield ($n = 10$) was 3.7 ± 1.1 GBq, with a specific activity on the order of 37 GBq/ μmol at the end of the synthesis.

2.2 | Animals

Eight female Wistar rats at 12 weeks of age (weight 217 ± 21 g) were used in this research protocol. It was decided to use only young adult female rats because it has been shown that the binding of ^{11}C -DTBZ to the VMAT2 is gender independent in rats (Kilbourn, 2004). During the study, rats were housed with a 12-hr light-dark cycle at room temperature ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) with access to food and water ad libitum. All experiments were performed observing the technical specifications for the production, care, and use of laboratory animals stated in the Official Mexican Norm NOM 0062-ZOO-1999. Experimental procedures were performed following institutional guidelines and were approved by the Animal Care and Use Committee of the Facultad de Medicina at Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

2.3 | PET imaging

Subjects underwent two ^{11}C -DTBZ PET scans (test-retest) separated by a 2-month period [12 weeks (test), 20 ± 2 weeks (re-test)], which is a typical age and period for the evaluation and follow-up in animal models of PD after experimental treatments (Díaz et al., 2007; Díaz-Martínez et al., 2013; Rodríguez-Gómez et al., 2007). A Focus 120 PET scanner (CTI-Concorde Microsystems LLC, Knoxville, TN) was used for PET data acquisition. ^{11}C -DTBZ (37 ± 10 MBq) was administered intravenously as a slow bolus injection via the tail vein, with the rats under gaseous anesthesia. Brain dynamic PET data was acquired in list mode for 65 min from the moment of dose injection. Anesthesia was induced with 5% isoflurane in 100% O_2 and maintained with 2–3% isoflurane during the duration of scans, and vital signs were continuously monitored and recorded, including respiration, heart rate, and temperature. Raw list-mode PET data were collected as 90 successive frames of 36×15 s; 18×20 s; 20×30 s; 10×60 s; and 6×5 min, and reconstructed with 2 D-ordered subsets expectation maximization algorithm on a matrix of 128×128 pixels (pixel size: 0.866 mm; plane thickness: 0.796 mm). Images were corrected for scanner normalization, detector dead time, random, and scattered events. Images were not corrected for attenuation.

2.4 | Image data processing

Processing of image analysis was performed with PMOD software package (version 3.7, PMOD Technologies LLC). The reconstructed PET data were corrected for motion by registering each frame to the last frame. Images were smoothed with a 1 mm full width at half maximum Gaussian filter. The volumes of interest (VOIs) were obtained by manually drawing a 2 mm radius sphere centered at the structures of interest (right striatum and cerebellum). VOIs were propagated for all acquired frames to obtain time-activity curves (TAC). Analysis of the data was performed using the SRTM, LRTM, MRTMo, and MRTM2 implemented in PMOD. A fixed clearance rate $k'_2 = 0.02$ (min^{-1}) was used as input parameter for MRTM2, as obtained with PMOD for all test-retest evaluations. In addition, 30 min static images were created adding up frames from 35 to 65 min to determine the striatum-to-cerebellum ratio (SCR-1) using the same VOIs.

2.5 | Statistical analysis

Test-retest variability (VAR%) was calculated as follows:

$$\text{VAR} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{2||\text{Test}_i - \text{reTest}_i||}{\text{Test}_i + \text{reTest}_i} * 100 \quad (6)$$

Reliability, however, was measured with Interclass Correlation Coefficient (ICC) estimates and their 95% confident intervals, calculated using the Real Statistics Resource Pack Software release 4.3 [Copyright (2013 – 2015) Charles Zaiontz. www.real-statistics.com]. The ICC was computed as:

$$\text{ICC} = \frac{\text{BSMSS} - \text{WSMSS}}{\text{BSMSS} + \text{WSMSS}} \quad (7)$$

where BSMSS is the mean sum of squares between subjects, and WSMSS is the mean sum of squares within subjects. This coefficient estimates the reliability of the measurement and ranges between -1 (no reliability, that is, $\text{BSMSS} = 0$) to 1 (maximum reliability, achieved in the case of identity between test and retest, that is, $\text{WSMSS} = 0$; Parsey et al., 2000).

In addition, test-retest was compared using linear regression and Pearson correlation analysis using GraphPad Prism 6.0.

3 | RESULTS

An example of a typical TAC for the striatum and the reference region (cerebellum) is shown in Figure 1, while the average BP_{ND} of ^{11}C -DTBZ in rat striatum and their standard deviation, variability, and ICC values with their confidence intervals for the evaluated methods are presented in Table 1. Typical BP_{ND} parametric images obtained with the evaluated methods are shown in Figure 2. Mean BP_{ND} obtained with the evaluated methods gave values from 1.10 to 1.26 with variabilities ranging from 3.28 to 7.44% depending on the method. Reliability indices for these methods indicated

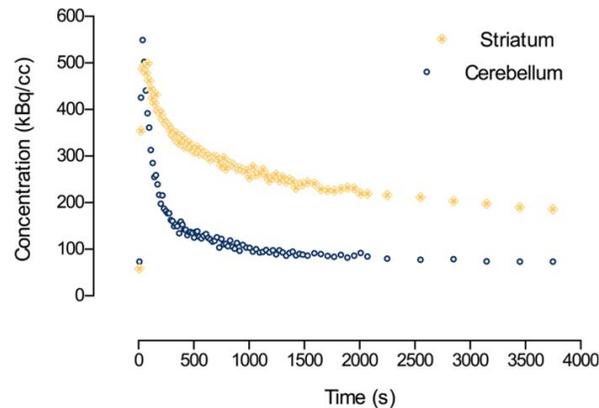


FIGURE 1 Typical TAC of ^{11}C -DTBZ in rat striatum and cerebellum

a good reproducibility for the distinct evaluated methods. However, the values obtained with the semiquantitative method as SCR-1 give more variability and consequently less reproducibility.

A linear regression and Pearson analysis performed to compare BP_{ND} at test and retest for each rat showed that SRTM and MRTM are more accurate methods while the ratio method showed greater differences between test and retest (see Figure 3). Note that the r values for SRTM and MRTM are similar ($r > 0.94$ – 0.97), suggesting them as better methods compared to the LRTM analysis ($r = 0.89$) and the SCR method ($r = 0.66$); The p values correspond to the Pearson analysis. MRTM2 demonstrated the best test-retest variability (3.28%) and ICC value (0.98) among the methods evaluated in this study.

4 | DISCUSSION

In this study, we evaluate the test-retest reproducibility of ^{11}C -DTBZ PET measures using different reference tissue methods in healthy rat striatum. The reliability of quantification by non-invasive reference tissue methods was explored to compare them at longitudinal studies. Excellent reproducibility values were found for SRTM, MRTMo, and MRTM2; LRTM had acceptable values whereas the ratio method (SCR) showed the greatest variability. The results of this study show that quantitative ^{11}C -DTBZ PET data in terms of BP_{ND} are a stable and reproducible indicator of dopaminergic integrity allowing to follow-up, noninvasively, the striatum uptake of the radiotracer in longitudinal studies. This study also showed that quantification of ^{11}C -DTBZ uptake does not get changes in young adult rats in the evaluated period (2 months), making these reference tissue methods suitable to compare between groups of subjects and to compare treated and control animals in longitudinal studies with a small bias due to the method of quantification.

Lammertsma (2017) recently stated that test-retest variability of reversible brain-receptor radiopharmaceuticals is in the range of 5–10%, which has been demonstrated by other authors reporting quantitative analysis results using other radiopharmaceuticals such as ^{11}C -SCH23390 (Kaller et al., 2017), ^{11}C -Cimbi-36 and ^{18}F -altanserin (Ettrup et al., 2016), ^{11}C -raclopride (Alakurtti et al., 2015), ^{11}C -flumazenil (Salmi et al., 2008), Fallypride (Dunn et al., 2013), ^{18}F -DOPA (Egerton, Demjaha, McGuire, Mehta, & Howes, 2010), and now we can also include ^{11}C -DTBZ.

Chan et al. (1999) reported a good reproducibility of quantitative values for ^{11}C -DTBZ in healthy humans using Logan analysis with blood sampling for input function. They showed that reference methods (target-to-reference) have higher reliability than full Logan analysis. Even though a study with plasma input function allows to absolute quantification, this method is more susceptible to noise from arterial measurements. For this reason, reference methods are an excellent and easier alternative to quantify PET tracers with reversible binding kinetics. Kilbourn (2004) showed that the binding of ^{11}C -DTBZ to the VMAT in rat brain is independent of animal gender and estimated a loss of specific binding of around 45% in older

TABLE 1 Test-retest parameters including the mean BP_{ND} ($n = 8$) of ^{11}C -DTBZ in rat striatum and their standard deviation, variability shown as a percentage, and ICC presented with its confidence interval

	SRTM	MRTMo	MRTM2	LRTM	(SCR-1) _{35–65}
BP_{ND} Test	1.10 (0.22)	1.18 (0.19)	1.21 (0.19)	1.26 (0.24)	1.40 (0.16)
BP_{ND} Retest	1.12 (0.26)	1.23 (0.20)	1.21 (0.23)	1.26 (0.20)	1.37 (0.26)
Variability	4.46%	5.10%	3.28%	7.44%	12.26%
ICC	0.91 [0.55–0.99]	0.93 [0.66–0.99]	0.98 [0.90–1.0]	0.83 [0.13–0.97]	0.66 [–0.1–0.94]

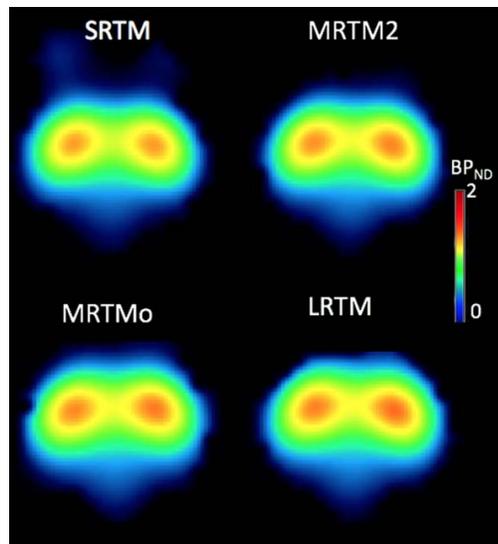


FIGURE 2 Representative transversal parametric images of BP_{ND} for ^{11}C -DTBZ in rat striatum obtained with different reference tissue methods. All images correspond for the analysis of the same subject

animals (78 weeks old) using a ratio method. As it has been shown in this work, ratio methods are not the best option for longitudinal studies therefore the ratio method is not the best option to quantify tracer uptake in rat striatum, but it is certainly far better than a simple standardized uptake value (SUV) analysis. For example, a test-retest analysis of our static images (summed frames from 35 to 65 min) based on SUV showed a variability >31% (data not shown), compared to variability's <12.5% obtained with the SCR method. SUV is a commonly used value in clinical settings, but the use of this measurement is better suited to radiopharmaceuticals that have irreversible kinetic (as opposed to reversible receptor binding studies) because SUV is affected by several physical, technical, and biological factors (Adams, Turkington, Wilson, & Wong, 2010; Zuñiga-Meneses, Avendaño-Estrada, & Avila-Rodriguez, 2014). In fact, the use of ratio methods using a reference tissue without specific binding eliminates some biases from the SUV, because ratios are independent of weight, injected dose, and attenuation, among other important factors affecting this value.

It is important to choose a correct method to quantify tracer uptake in order to reduce bias in the results due to the method itself. For studies intended to evaluate the efficacy of treatments where small changes are expected, it is crucial to choose a method that assures minimum variability such as MRTM. It has been shown that MRTM2 provides BP_{ND} values of ^{11}C -DASB with less variability compared with that of MRTMo (Ichise et al., 2003). In this work, we also found that the BP_{ND} of ^{11}C -DTBZ in rat striatum showed less variability when calculated using MRTM2. This is because MRTM2 estimates fewer parameters and is less subjective to noise levels than MRTMo. Lammertsma and Hume (1996), however, showed that SRTM is a robust method to estimate BP values using ^{11}C -SCH 23390, ^{11}C -raclopride, and ^{11}C -RTI-121. In this work, we have shown that this method is also valuable to estimate BP_{ND} values to evaluate ^{11}C -DTBZ uptake in rat striatum.

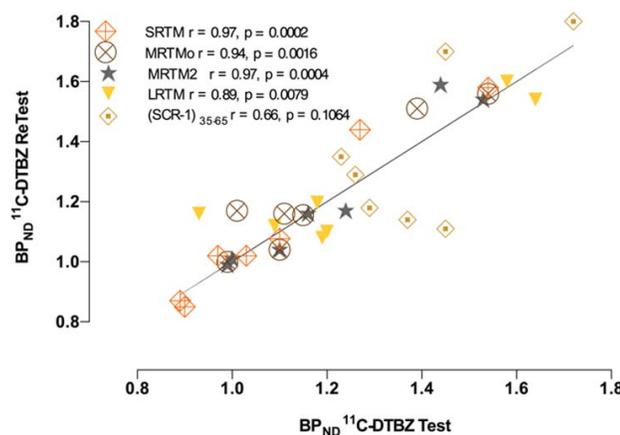


FIGURE 3 Linear regression analysis for test and retest BP_{ND} in rat striatum for different reference tissue methods ($n = 8$)

For cases where large uptake changes are expected as in lesioned rat models or advanced PD, the LRTM could be good enough to detect changes. Although SCR-1 does not show good indices of repeatability (ICC = 0.66 and VAR = 12.26%), sometimes it is the only way to compare in clinical settings and preclinical studies, and it certainly works better than a simple SUV analysis. This value could be used to compare intersubject and intrasubject studies taking extreme care of using the same parameters of acquisition and frame times. Although, comparisons using this method must be treated carefully to ensure that small changes are due to the evaluate value and not due to the quantification method.

5 | CONCLUSIONS

Several methods can be used to estimate ^{11}C -DTBZ BP_{ND} with different degrees of reliability and reproducibility. MRTM2 and SRTM showed the best repeatability and accuracy indices, followed by the MRTM₀, when evaluating the uptake in rat striatum over a period of 2 months. LRTM, however, showed acceptable results with variabilities under 10%. Finally, the ratio method using cerebellum as reference tissue gave the less accurate results among the evaluate methods, though much better results than a simple SUV analysis.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to acknowledge Victor Manuel Lara, Damaris Albores, and Dafne Garduño for microPET imaging; Fernando Trejo, Gabriela Contreras, Héctor Gama, Armando Flores, Adolfo Zárate, Juan Carlos Manríquez, and Efraín Zamora for radiopharmaceutical production; and Mrs. Josefina Bolado for reviewing the English-language of this manuscript. AA-E is a doctoral student from Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), and received fellowship 245297 from the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT). This research received partial financial support from UNAM-DGAPA-PAPIIT IT201115.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflicts of interest.

ORCID

Miguel Angel Ávila-Rodríguez  <http://orcid.org/0000-0002-3060-410X>

REFERENCES

- Adams, M. C., Turkington, T. G., Wilson, J. M., & Wong, T. Z. (2010). A systematic review of the factors affecting accuracy of SUV measurements. *American Journal of Roentgenology*, 195(2), 310–220. <https://doi.org/10.2214/AJR.10.4923>
- Alakurtti, K., Johansson, J. J., Joutsa, J., Laine, M., Bäckman, L., Nyberg, L., & Rinne, J. O. (2015). Long-term test-retest reliability of striatal and extrastriatal dopamine D2/3 receptor binding: study with [^{11}C]raclopride and high-resolution PET. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 35, 1199–1205. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2015.53>
- Chan, G. L. Y., Holden, J. E., Stoessl, A. J., Samii, A., Doudet, D. J., Dobko, T., ... Ruth, T. J. (1999). Reproducibility Studies with ^{11}C -DTBZ, a Monoamine Vesicular Transporter Inhibitor in Healthy Human Subjects. *Journal of Nuclear Medicine*, 40, 283–289.
- Cumming, P., Léger, G. C., Kuwabara, H., & Gjedde, A. (1993). Pharmacokinetics of plasma 6-[^{18}F]fluoro-L-3,4-dihydroxyphenylalanine ([^{18}F]Dopa) in humans. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 13, 668–675. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.1993.85>
- DaSilva, J. N., & Kilbourn, M. R. (1992). In vivo binding of [^{11}C]tetrabenazine to vesicular monoamine transporters in mouse brain. *Life Sciences*, 51, 593–600. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(92\)90228-H](https://doi.org/10.1016/0024-3205(92)90228-H)
- Díaz, N. F., Guerra-Arraiza, C., Díaz-Martínez, N. E., Salazar, P., Molina-Hernández, A., Camacho-Arroyo, I., & Velasco, I. (2007). Changes in the content of estrogen α and progesterone receptors during differentiation of mouse embryonic stem cells to dopamine neurons. *Brain Research Bulletin*, 73, 75–80. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2007.02.002>
- Díaz-Martínez, N. E., Tamariz, E., Díaz, N. F., García-Peña, C. M., Varela-Echavarría, A., & Velasco, I. (2013). Recovery from experimental parkinsonism by semaphorin-guided axonal growth of grafted dopamine neurons. *Molecular Therapy*, 21, 1579–1591. <https://doi.org/10.1038/mt.2013.78>
- Dunn, J. T., Clark-Papasavas, C., Marsden, P., Baker, S., Cleij, M., Kapur, S., ... Reeves, S. J. (2013). Establishing test-retest reliability of an adapted [^{18}F]fallypride imaging protocol in older people. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 33, 1098–1103. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2013.55>
- Duty, S., & Jenner, P. (2011). Animal models of Parkinson's disease: A source of novel treatments and clues to the cause of the disease. *British Journal of Pharmacology*, 164, 1357–1391. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01426.x>
- Egerton, A., Demjaha, A., McGuire, P., Mehta, M. A., & Howes, O. D. (2010). The test-retest reliability of ^{18}F -DOPA PET in assessing striatal and extrastriatal presynaptic dopaminergic function. *Neuroimage*, 50, 524–531. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2009.12.058>
- Elsinga, P. H., Hatano, K., & Ishiwata, K. (2006). PET tracers for imaging of the dopaminergic system. *Current Medicinal Chemistry*, 13, 2139–2153. <https://doi.org/10.2174/092986706777935258>

- Ettrup, A., Svare, C., McMahon, B., da Cunha-Bang, S., Lehel, S., Møller, K., ... Knudsen, G. M. (2016). Serotonin 2A receptor agonist binding in the human brain with [11C]Cimbi-36: Test-retest reproducibility and head-to-head comparison with the antagonist [18F]altanserin. *Neuroimage*, 130, 167–174. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2016.02.001>
- Farde, L., Hallidin, C., Stone-Elander, S., & Sedvall, G. (1987). PET analysis of human dopamine receptor subtypes using 11C-SCH 23390 and 11C-raclopride. *Psychopharmacology (Berl)*, 92, 278–284. <https://doi.org/10.1007/BF00210831>
- Gao, L., Chen, H., Li, X., Li, F., Ou-Yang, Q., & Feng, T. (2015). The diagnostic value of minor salivary gland biopsy in clinically diagnosed patients with Parkinson's disease: Comparison with DAT PET scans. *Neurological Sciences*, 36, 1575–1580. <https://doi.org/10.1007/s10072-015-2190-5>
- Gatley, S. J., Volkow, N. D., Fowler, J. S., Dewey, S. L., & Logan, J. (1995). Sensitivity of striatal [11C]cocaine binding to decreases in synaptic dopamine. *Synapse (New York, N.Y.)*, 20, 137–144. <https://doi.org/10.1002/syn.890200207>
- Gunn, R. N., Gunn, S. R., & Cunningham, V. J. (2001). Positron emission tomography compartmental models. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 21, 635–652.
- Gunn, R. N., Lammertsma, A. A., Hume, S. P., & Cunningham, V. J. (1997). Parametric imaging of ligand-receptor binding in PET using a simplified reference region model. *Neuroimage*, 6, 279–287. <https://doi.org/10.1006/nimg.1997.0303>
- Ichise, M., Ballinger, J. R., Golan, H., Vines, D., Luong, A., Tsai, S., & Kung, H. F. (1996). Noninvasive Quantification of Dopamine D2 Receptors with Iodine-123-IBF SPECT. *Journal of Nuclear Medicine*, 37, 513–520.
- Ichise, M., Liow, J.-S., Lu, J.-Q., Takano, A., Model, K., Toyama, H., ... Carson, R. E. (2003). Linearized reference tissue parametric imaging methods: application to [11C]DASB positron emission tomography studies of the serotonin transporter in human brain. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 23, 1096–1112. <https://doi.org/10.1097/01.WCB.0000085441.37552.CA>
- Innis, R. B., Cunningham, V. J., Delforge, J., Fujita, M., Gjedde, A., Gunn, R. N., ... Carson, R. E. (2007). Consensus nomenclature for in vivo imaging of reversibly binding radioligands. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 27, 1533–1539. <https://doi.org/10.1038/sj.jcbfm.9600493>
- Ishibashi, K., Robertson, C. L., Mandelkern, M. A., Morgan, A. T., & London, E. D. (2013). The simplified reference tissue model with 18F-Fallypride positron emission tomography: Choice of reference region. *Molecular Imaging*, 12. <https://doi.org/10.2310/7290.2013.00065>
- Kaller, S., Rullmann, M., Patt, M., Becker, G. A., Luthardt, J., Girbardt, J., ... Sabri, O. (2017). Test-retest measurements of dopamine D1-type receptors using simultaneous PET/MRI imaging. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 44, 1025–1032. <https://doi.org/10.1007/s00259-017-3645-0>
- Kilbourn, M. R. (2004). Long-term reproducibility of in vivo measures of specific binding of radioligands in rat brain. *Nuclear Medicine and Biology*, 31, 591–595. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2004.02.003>
- Lammertsma, A. A. (2017). Forward to the past: The case for quantitative PET imaging. *Journal of Nuclear Medicine: Official Publication, Society of Nuclear Medicine*, 58, 1019–1024. <https://doi.org/10.2967/jnumed.116.188029>
- Lammertsma, A. A., Bench, C. J., Hume, S. P., Osman, S., Gunn, K., Brooks, D. J., & Frackowiak, R. S. (1996). Comparison of methods for analysis of clinical [11C]raclopride studies. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 16, 42–52. <https://doi.org/10.1097/00004647-199601000-00005>
- Lammertsma, A. A., & Hume, S. P. (1996). Simplified reference tissue model for PET receptor studies. *Neuroimage*, 4, 153–158. <https://doi.org/10.1006/nimg.1996.0066>
- Loane, C., & Politis, M. (2011). Positron emission tomography neuroimaging in Parkinson's disease. *American Journal of Translational Research*, 3, 323–341.
- Logan, J., Fowler, J. S., Volkow, N. D., Wang, G. J., Ding, Y. S., & Alexoff, D. L. (1996). Distribution volume ratios without blood sampling from graphical analysis of PET data. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 16, 834–840. <https://doi.org/10.1097/00004647-199609000-00008>
- Logan, J., Fowler, J. S., Volkow, N. D., Wolf, A. P., Dewey, S. L., Schlyer, D. J., ... Gatley, S. J. (1990). Graphical analysis of reversible radioligand binding from time-activity measurements applied to [N-11C-methyl]-(-)-cocaine PET studies in human subjects. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 10, 740–747. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.1990.127>
- Mukherjee, J., Constantinescu, C. C., Hoang, A. T., Jerjian, T., Majji, D., & Pan, M.-L. (2015). Dopamine D3 receptor binding of (18)F-fallypride: Evaluation using in vitro and in vivo PET imaging studies. *Synapse*, 69, 577–591. <https://doi.org/10.1002/syn.21867>
- Parsey, R. V., Slifstein, M., Hwang, D. R., Abi-Dargham, A., Simpson, N., Mawlawi, O., ... Laruelle, M. (2000). Validation and reproducibility of measurement of 5-HT1A receptor parameters with [carbonyl-11C]WAY-100635 in humans: comparison of arterial and reference tissue input functions. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 20, 1111–1133. <https://doi.org/10.1097/00004647-200007000-00011>
- Rodríguez-Gómez, J. A., Lu, J.-Q., Velasco, I., Rivera, S., Zoghbi, S. S., Liow, J.-S., ... McKay, R. D. G. (2007). Persistent Dopamine Functions of Neurons Derived from Embryonic Stem Cells in a Rodent Model of Parkinson Disease. *Stem Cells*, 25, 918–928. <https://doi.org/10.1634/stemcells.2006-0386>
- Salmi, E., Aalto, S., Hirvonen, J., Långsjö, J. W., Maksimov, A. T., Oikonen, V., ... Scheinin, H. (2008). Measurement of GABAA receptor binding in vivo with [11C]Flumazenil: A test-retest study in healthy subjects. *Neuroimage*, 41, 260–269. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2008.02.035>
- Shao, X., Hoareau, R., Runkle, A. C., Tluczek, L. J. M., Hockley, B. G., Henderson, B. D., & Scott, P. J. H. (2011). Highlighting the versatility of the Tracerlab synthesis modules. Part 2: Fully automated production of [11C]-labeled radiopharmaceuticals using a Tracerlab FX C-Pro. *Journal of Labeled Compounds and Radiopharmaceuticals*, 54, 819–838. <https://doi.org/10.1002/jlcr.1937>
- Slifstein, M., Kegeles, L. S., Gonzales, R., Frankle, W. G., Xu, X., Laruelle, M., & Abi-Dargham, A. (2007). [11C]NNC 112 selectivity for dopamine D1 and serotonin 5-HT(2A) receptors: A PET study in healthy human subjects. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 27, 1733–1741. <https://doi.org/10.1038/sj.jcbfm.9600468>
- Stoessl, A. J. (2007). Positron emission tomography in premotor Parkinson's disease. *Parkinsonism & Related Disorders*, 13Suppl3, S421–S424. [https://doi.org/10.1016/S1353-8020\(08\)70041-5](https://doi.org/10.1016/S1353-8020(08)70041-5)

- Tieu, K. (2011). A guide to neurotoxic animal models of Parkinson's disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 1(1), a009316, <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a009316>
- Zuñiga-Meneses, L., Avendaño-Estrada, A., & Avila-Rodriguez, M. A. (2014). Standardized Uptake Values of Liver in Whole Body FDG-PET/CT: An Inter-patient Variability Study. *International Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 3, 21–25.

How to cite this article: Avendaño-Estrada A, Ávila-Rodríguez MA. Reference tissue models in the assessment of ^{11}C -DTBZ binding to the VMAT2 in rat striatum: A test-retest reproducibility study. *Synapse*. 2018;72:e22029. <https://doi.org/10.1002/syn.22029>