



UMA SOLUÇÃO DE BAIXO CUSTO PARA TOMOGRAFIA SPECT DE ALTA RESOLUÇÃO E SENSIBILIDADE DE PEQUENOS ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO: CONSIDERAÇÕES PRÁTICAS

MEJIA, Jorge¹; GALVIS-ALONSO, Orfa Yineth²; DE OLIVEIRA, Luciano Fonseca Lemos³; CARVALHO, Eduardo Elias Vieira³; SIMÕES, Marcus Vinícius³.

¹Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil.

²Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, São José do Rio Preto, SP, Brasil.

³Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

Data de submissão: 12 de maio de 2015. Aceito na versão final: 27 de maio de 2015

RESUMO: Introdução: No ambiente clínico, técnicas de obtenção de imagens *in vivo* são consideradas ferramentas padrão na avaliação da morfologia ou funcionalidade de órgãos no interior do corpo humano. A transferência dessas técnicas para o ambiente pré-clínico melhoraria aspectos econômicos, éticos ou estatísticos dos procedimentos experimentais, já que o número necessário de animais é reduzido, podem ser feitas avaliações longitudinais em diferentes momentos no mesmo grupo experimental e os animais podem ser usados como seus próprios controles. **Objetivo:** Neste trabalho, apresentamos uma revisão da nossa experiência adquirida no desenvolvimento de instrumentação para produzir imagens tomográficas SPECT de alta qualidade de órgãos de pequenos animais, usando como base uma câmara clínica durante o tempo ocioso, em combinação com colimadores de orifício simples e multiorifício. **Métodos:** As adaptações de hardware da câmara clínica incluem a construção de um dispositivo apropriado para colimação e blindagem, assim como um conjunto para posicionamento e rotação do alvo. As adaptações de software incluem uma ferramenta para sincronização da rotação do alvo com o protocolo de registro da câmara, e uma ferramenta de reconstrução de imagens tomográficas utilizando o algoritmo de Máxima Verossimilhança. Com este sistema, obtivemos imagens detalhadas de órgãos como o coração e os rins de ratos e hamsters, em menos de 1 h, com resolução espacial próxima de 1,5 mm (FWHM). O módulo de adaptação é montado em um carro, de forma que pode ser usado em diferentes câmaras. **Conclusão:** Assim sendo, esta é uma solução de baixo custo, multiplataforma e multipropósito, com aplicação em estúdios pré-clínicos em áreas como Cardiologia, Neurologia ou Nefrologia.

PALAVRAS CHAVE: Colimador Pinhole; Estudo pré-clínico; Imagens em pequenos animais; SPECT.

A LOW COST, MULTIPLATFORM, HIGH RESOLUTION AND SENSITIVITY SOLUTION FOR SMALL ANIMAL SPECT IMAGING: A REVIEW ON PRACTICAL CONSIDERATIONS

ABSTRACT: Introduction: In the clinical environment, *in vivo* imaging techniques are standard tools to assess morphology or functionality of organs inside the human body. Bringing those techniques to the preclinical environment improves economical, ethical and statistical issues of the experimental procedure, as the number of animals is reduced, long term evaluations at different time points can be carried out on the same experimental group and animals can be used as their own controls. **Objective:** Here, we present an overview of our experience acquired while implementing a solution to produce high quality SPECT images of small animals, using a clinical gamma camera at its spare time, in combination with pinhole and multipinhole collimators. **Methods:** Hardware adaptations of the gamma-camera include building an appropriate collimator setup and a positioning and rotation stage for the animal holder. Software developments include computer tools for synchronization of the rotation stage with the camera's acquisition protocol and a reconstruction tool to produce volumetric images based on the Maximum Likelihood algorithm. With this system, we have obtained detailed images of organs like the heart and kidneys of rats and hamsters, in less than 1 h, with a spatial resolution near to 1,5 mm (FWHM). The updating module is mounted in a mobile cart, so it can be used on different gamma cameras. **Conclusion:** This is a low cost, multiplatform, multipurpose solution with application in preclinical studies in, e.g., Cardiology, Neurology or Nephrology.

KEYWORDS: Pinhole collimators; Preclinical research; Small animal imaging; SPECT.

Correspondência para/Correspondence to:

MEJIA, Jorge. Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil. Tel: +55 (11)2151-7354. E-mail: jorge.cabeza@einstein.br

INTRODUÇÃO

Pequenos animais de laboratório são ferramentas importantes para o desenvolvimento de pesquisa pré-clínica. Neste tipo de estudos, embora algumas variáveis experimentais possam ser avaliadas *in vivo* (por observação do comportamento ou por coleta de sangue ou outros fluidos ou amostras), em muitos casos o animal deve ser sacrificado e o órgão de interesse deve ser removido e processado para avaliar o efeito do protocolo experimental. Já no ambiente clínico, técnicas de obtenção de imagens são ferramentas padrão para a avaliação da anatomia e da funcionalidade de órgãos humanos de forma não invasiva. Essas técnicas de imageamento incluem Ultrassonografia (US), Tomografia Computadorizada de raios X (*Computed Tomography*, CT), Tomografia por Ressonância Magnética (RM), Tomografia por Emissão de Pósitrons (*Positron Emission Tomography*, PET) e Tomografia Computadorizada por Emissão de Fótons Singulares (*Single-Photon Emission Computed Tomography*, SPECT). Todas estas técnicas estão razoavelmente bem padronizadas em termos de resolução espacial e sensibilidade para órgãos humanos, a pesar de novos avanços serem apresentados a cada dia em cada uma delas individualmente ou em combinações multimodalidade (p.ex., MADSEN, 2007; ZAIDI; PRASAD, 2009; ZAMAN; HASHMI; FATIMA, 2010). Comparando por peso, pequenos animais de experimentação (como ratos, hamsters e camundongos) são um fator 100 a 3000 menores do que os seres humanos. Portanto, instrumentos de imageamento clínico não são diretamente aplicáveis a eles, e algum tipo de adaptação deve ser feita ou aparelhos específicos devem ser construídos. A partir da nossa experiência no desenvolvimento de ferramentas de hardware e de software para obtenção de imagens SPECT de órgãos de pequenos animais (MEJIA *et al.*, 2009; MEJIA *et al.*, 2010) e considerando as alternativas disponíveis nas nossas instituições clínicas e de pesquisa, neste artigo apresentamos uma revisão de aspectos chave que devem ser considerados ao se fazer este tipo de desenvolvimento. Inicialmente, explicamos os princípios básicos do imageamento tomográfico em raios gama. A seguir, mostramos as opções disponíveis para detectores e colimadores, assim como os critérios de construção para atingir a sensibilidade e resolução espacial apropriadas para estudos com pequenos animais. Finalmente, apresentamos as alternativas de software para produzir modelos tridimensionais da distribuição do radiofármaco no objeto de estudo. Todos os aspectos revisados são ilustrados com resultados da nossa própria pesquisa. Quando imagens de animais de laboratório foram feitas, cuidados especiais foram tomados para evitar o sofrimento, e todos os procedimentos foram conduzidos de conformidade com as normas éticas institucionais e internacionais para cuidado e uso de animais de laboratório.

OBTENÇÃO DE IMAGENS EM RAIOS GAMA

Neste trabalho, consideramos uma imagem como a representação da distribuição de uma característica de interesse no alvo. Essa representação pode ser direta, como

no caso de imagens planas obtidas com câmaras fotográficas e lentes ou orifícios, em que cada pequeno elemento na imagem representa uma pequena região bem determinada no alvo, em uma janela temporal definida. A representação também pode ser codificada de alguma forma, não existindo mais uma correspondência direta com o alvo, como no caso de imagens obtidas com, p.ex., colimadores de orifício múltiplo, máscaras codificadas ou anteparos rotatórios. Nesta situação, algum tipo de pós-processamento deve ser aplicado na imagem registrada com o objetivo de obter a imagem direta clássica. Imagens podem ter duas ou três dimensões espaciais, e podem incluir informação temporal ou espectral. Outras características podem ser consideradas e a informação correspondente será incluída na imagem registrada.

Na Medicina Nuclear, e mais especificamente no imageamento SPECT, fármacos apropriados para um dado órgão ou processo fisiológico são marcados com isótopos emissores de raios gama (isótopos radioativos). Em SPECT, o isótopo radioativo mais comumente usado para propósitos clínicos é o Tecnécio-99 metaestável (^{99m}Tc), produzido pelo decaimento do Molibdênio-99 (^{99}Mo) em geradores de Mo-Tc. O ^{99m}Tc tem meia-vida de 6 horas e, quando decai, emite fótons gama com energia de 140 keV. Outros isótopos usados em imageamento SPECT são o Tálcio-201 (^{201}Tl , 3,05 d, 68-80 keV), Iodo-123 (^{123}I , 13 h, 159 keV), Gálio-67 (^{67}Ga , 3,3 d, 93, 185 e 300 keV) e Índio-111 (^{111}In , 2,81 d, 172 e 247 keV) (p.ex., CHERRY *et al.*, 2003). Estes radiofármacos são aplicados no corpo por via endovenosa, inalatória ou oral. A partir daí, eles podem acompanhar processos metabólicos ou fisiológicos, e podem circular ou se fixar a um órgão ou tecido específico. De qualquer forma, cada pequeno volume de radiofármaco se comporta como uma fonte isotrópica de raios gama, os quais podem ser detectados e registrados para produzir imagens. Raios gama são altamente penetrantes, de forma que podem deixar o corpo quase sem interagir com ele, a pesar de que alguma absorção ou espalhamento podem acontecer dependendo das propriedades dos tecidos intermediários e da energia da radiação. Portanto, com a instrumentação apropriada, imagens da distribuição do radiofármaco no interior do corpo podem ser registradas.

Modelos tridimensionais da distribuição do radiofármaco podem ser gerados combinando apropriadamente um conjunto de projeções obtidas desde diferentes posições angulares ao redor do alvo. No ambiente clínico, as projeções são obtidas usando colimadores de orifícios paralelos posicionados na frente do detector, entre ele e o alvo. Para qualquer pequena região do detector, colimadores paralelos fazem com que apenas os fótons originados no interior de uma região cilíndrica a través do objeto e perpendicular ao detector incidam nessa pequena área e sejam registrados. Dessa forma, existe uma relação direta entre a posição do elemento de imagem e o local de origem dos fótons no alvo, sendo que as imagens produzidas com colimadores paralelos têm o mesmo tamanho que o objeto emissor. Por este motivo, detectores de câmaras clínicas, em conjunto com colimadores paralelos, não são apropriados para fazer projeções de alvos de pequenas

dimensões, como os órgãos de pequenos animais (CHERRY *et al.*, 2003).

Orifícios podem ser usados para produzir imagens. Neste caso, apenas os fótons vindos do alvo seguindo trajetórias que cruzam a área aberta do orifício podem atingir o detector. As possíveis direções estão limitadas pelo tamanho do orifício de tal forma que, mais uma vez, existe uma relação direta entre o elemento de imagem e a direção de incidência dos fótons através da fonte emissora, embora, neste caso, ela não é necessariamente perpendicular ao detector. Diferente dos colimadores paralelos, colimadores de orifício permitem algum tipo de magnificação tal que, dependendo da relação entre as distâncias fonte-colimador e detector-colimador, a imagem pode ser suficientemente aumentada, fazendo com que pequenos detalhes se tornem observáveis (BEEKMAN; HAVE, 2007). A resolução espacial também depende da resolução intrínseca do detector e do diâmetro do orifício, como se mostra na expressão a seguir:

$$R_o \cong \sqrt{\left[\left(1 + \frac{1}{M} \right) d_{eff} \right]^2 + \left[\frac{R_i}{M} \right]^2}, \quad (1)$$

em que R_o representa a resolução espacial no alvo, $M = d_i/d_o$ é o fator de magnificação, d_i e d_o são, respectivamente, as distâncias detector-colimador e fonte-colimador, R_i corresponde à resolução intrínseca do detector e d_{eff} representa o diâmetro efetivo do orifício, considerando a penetração de fótons através das suas bordas. O diâmetro efetivo do orifício depende do material do colimador e da energia da radiação usada para obter imagens, por meio do coeficiente de absorção linear, μ , de acordo com a expressão (p.ex., ACCORSI; METZLER, 2005):

$$d_{eff} = d \left(1.0 - \ln(0.5) \frac{\tan(\alpha/2)}{\mu \cdot d} \right). \quad (2)$$

Nesta equação, d representa o diâmetro físico do orifício e α corresponde ao ângulo de abertura do orifício cônico. De acordo com a equação (1), para melhorar a resolução espacial, o diâmetro do orifício deve ser reduzido,

pelo menos até atingir o limite imposto pela resolução intrínseca do detector e a magnificação. Entretanto, há um compromisso entre resolução espacial e sensibilidade, já que ao diminuir o tamanho do orifício também se reduz o número de fótons emitidos pela fonte que efetivamente atingem o detector. A sensibilidade pode ser melhorada utilizando colimadores de orifícios múltiplos. Porém, neste caso, e dependendo do tamanho do alvo, da distribuição de radiofármaco e da magnificação, poderá haver alguma sobreposição das imagens individuais, o que pode dificultar ou até impossibilitar a apropriada reconstrução do modelo tridimensional da emissão (MOK *et al.*, 2011).

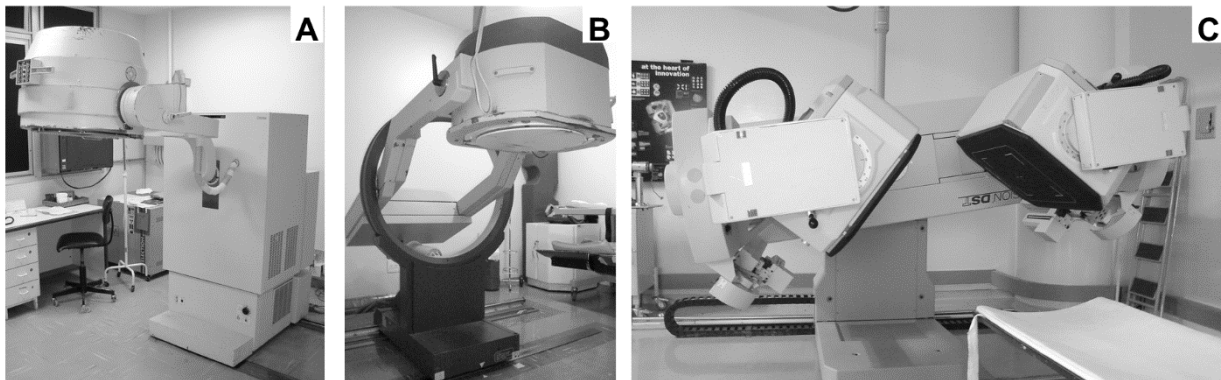
Por outro lado, as imagens individuais, geradas por orifícios específicos do colimador, correspondem a diferentes pontos de visualização. Por esse motivo, não podem ser simplesmente deslocadas e empilhadas para produzir projeções individuais, embora cada uma delas contenha informação adicional sobre a distribuição volumétrica do radiotraçador no alvo, o que se torna importante ao gerar este modelo. Uma discussão mais detalhada sobre os colimadores de orifício simples e multiorifício será apresentada posteriormente. Outros tipos de colimadores não tão comuns podem ser considerados, como é o caso dos colimadores de slit-slat (METZLER *et al.*, 2006; MAHMOOD *et al.*, 2009), skew-slit (TANG *et al.*, 2006) e cross-slit (MEJIA *et al.*, 2010). Todavia, não serão abordados neste trabalho já que fogem do objetivo proposto.

DETECTORES

Câmaras SPECT de Uso Clínico

O elemento mais importante e, possivelmente, o mais caro neste desenvolvimento é o detector da radiação gama. Consideraremos o caso de uma câmara de uso clínico, principalmente porque tomógrafos SPECT são muito comuns no nosso ambiente clínico. Consideraremos ainda que o aparelho SPECT pode ser usado no tempo livre em pesquisas pré-clínicas ou que uma câmara retirada do serviço está disponível. Nos dois casos, o aparelho deve ser adaptado para a aplicação aqui discutida. Não é incomum ter um colimador de orifício como parte do tomógrafo.

Figura 1 - Imagens das câmaras clínicas disponíveis em nossas instituições, em que testamos o sistema desenvolvido: (A) Siemens-Orbiter, (B) Elscint e (C) DST/Sopha (com dois detectores).



Contudo, normalmente ele não é utilizado para fazer tomografia, mas apenas para obter imagens planas de órgãos específicos. Por esse motivo, o sistema não conta com ferramentas de software para reconstrução volumétrica a partir de registros feitos com colimador de orifício. Adicionalmente, eles costumam ter diâmetro grande para favorecer a sensibilidade. De qualquer forma, vamos supor que inclusive o colimador de orifício não está disponível. Na Fig. 1, mostramos imagens de três tomógrafos SPECT diferentes, disponíveis em nossas instituições: (a) Siemens Orbiter, (b) Elscint e (c) DST/Sopha. Apenas o último instrumento não tem colimador de orifício.

Na sua grande maioria, câmaras de uso clínico utilizam detectores cintiladores de Iodeto de Sódio dopado com Tálcio (NaI(Tl)), os quais produzem flashes de luz quando fótons gama interagem com eles e depositam energia. Um conjunto de tubos fotomultiplicadores (TFM), acoplados opticamente à face posterior do detector, registram e amplificam o sinal produzido. Combinando eletronicamente a contribuição dos TFMs individuais, o sistema fornece uma estimativa das coordenadas, (x,y), da posição da interação no detector e da energia depositada.

É desejável que todos os fótons emitidos pelo órgão alvo viajem sem serem perturbados e interajam com o detector mediante o efeito fotoelétrico, depositando a totalidade da sua energia. Não obstante, pode ocorrer que o fóton sofra um espalhamento Compton antes de deixar o objeto de estudo, perca parte da sua energia e seja redirecionado para o detector, sendo absorvido nele. Neste caso, a posição de interação não reflete a direção real da fonte onde ele se originou. Por outro lado, o fóton pode ser espalhado no detector, depositando apenas uma fração da sua energia. Se o fóton de menor energia resultante desta interação escapa do detector, ainda será possível determinar as coordenadas de interação corretas, mas a informação sobre a energia contida no fóton original estará comprometida. Para evitar estes problemas, são considerados como eventos válidos para o processo de imageamento apenas fótons que depositam energia dentro de uma faixa razoável em torno de um valor esperado correspondente ao radiofármaco utilizado. Adicionalmente, o fóton secundário a um espalhamento Compton no detector pode ser absorvido por ele em um tempo muito curto, tal que as posições das interações individuais não podem ser identificadas o que introduz uma incerteza maior na determinação das coordenadas da posição do evento. Neste caso, não há como descartar a informação errada, que será incluída na imagem produzida.

Tipicamente, a posição de interação dos fótons no detector é organizada em um arranjo digital de dimensões escolhidas pelo usuário. Frequentemente, 64×64 ou 128×128 elementos são usados para mapear a área útil do detector, porém outras dimensões podem ser selecionadas. Alternativamente, a informação sobre posição, energia e horário do evento pode ser salva em um formato de lista, e pode ser usada para produzir imagens em uma etapa posterior. Entretanto, esta é uma situação pouco comum no ambiente clínico. Em aparelhos comerciais, o registro de múltiplas imagens ou projeções pode ser realizado seguindo dois protocolos diferentes: modo SPECT ou modo

dinâmico. No primeiro caso, o detector é rotacionado automaticamente ao redor do paciente enquanto as projeções individuais são adquiridas. No segundo caso, o detector permanece estacionário enquanto as imagens são registradas. Considerando o peso do conjunto formado pela cabeça da gama-câmara, o colimador e o sistema de rotação, alguns erros de posicionamento e vibrações são esperados ao rotacionar o sistema, os quais são suficientemente pequenos e podem ser desprezados quando órgãos humanos são estudados. Ao estudar órgãos de pequenos animais de laboratório, esses erros podem ser da mesma ordem de grandeza que os detalhes que se deseja registrar, de forma que rotacionar o animal ao invés do conjunto imageador para registrar as projeções em modo dinâmico é uma melhor opção. Um terceiro protocolo de registro inclui a sincronização com um sinal elétrico periódico como o eletrocardiograma, mas esta opção não será considerada aqui.

Com essa informação em mente, se uma câmara de uso clínico é considerada, as projeções serão fornecidas ao usuário como um arquivo contendo uma sequência de arranjos de valores de contagens por pixel (ou intensidade normalizada por pixel), seguindo algum tipo de formato estabelecido pelo fabricante. Nas máquinas mais modernas, os arquivos são guardados em formato DICOM, um protocolo de comunicação padronizado para o intercâmbio de informação entre diferentes protocolos de imageamento médico (<http://dicom.nema.org/>). Arquivos em formato DICOM podem ser visualizados e manipulados com várias ferramentas de software livre disponíveis na internet como, p.ex., ImageJ, ezDicom ou Irfanview (BARRA et al., 2010). Alternativamente, os arquivos podem ser fornecidos em modo lista. Contudo, novamente, esta é uma opção que não será considerada neste trabalho.

Alguns grupos têm desenvolvido instrumentos dedicados para o estudo de pequenos animais baseados em cristais cintiladores de grande área. Este é o caso do USPECT-II (MILabs – HAVE et al., 2009) e NanoSPECT (BIOSCAN – on line). No nosso caso, uma gama-câmara retirada é uma opção para construir um instrumento dedicado para imageamento de pequenos animais, com a vantagem de ter acesso total à mecânica e à eletrônica para modificações e atualizações.

Imageadores Baseados em Câmaras CCD

Como uma alternativa aos detectores cintiladores de grande área, instrumentos de propósito específico podem ser construídos a partir de câmaras CCD e cintiladores de alta resolução intrínseca e pequenas dimensões. Fazendo uso de CCDs intensificadas em combinação com detectores cintiladores colunares de Iodeto de Césio dopado com Tálcio (CsI(Tl)), o *Centre for Gamma-Ray Imaging* da *University of Arizona* construiu o instrumento FastSPECT-III (MILLER et al., 2009). Este aparelho é formado por 20 imageadores independentes de orifício simples, organizados em três anéis, todos eles orientados na direção do centro do campo de visão. Cada câmara consiste de um cintilador colunar de CsI(Tl) de 50 mm de diâmetro cuja emissão de luz é amplificada por um intensificador de imagens. O sinal produzido pelo intensificador é registrado por uma câmara

CCD de alta velocidade (640×480 pixels, 7,4 µm/pixel) a uma taxa de até 200 quadros por segundo, em um modo conhecido como *photon counting*. Os quadros individuais são pré-processados para determinar a posição da interação dos fótons no detector com resolução subpixel. Já que as projeções são registradas simultaneamente, nem o alvo e nem o instrumento são rotacionados, minimizando erros de posicionamento, exceto pelo movimento fisiológico do animal estudado. Resolução espacial tomográfica próxima de 1 mm foi reportada, usando colimadores de orifício de 0,5 mm de diâmetro e um cintilador colunar de 270 µm de espessura (MILLER *et al.*, 2006).

A partir de uma câmara *Electron Multiplying CCD* (EMCCD), em conjunto com um intensificador de imagens, a *University of Illinois* em Urbana-Champaign construiu o instrumento *Single Photon Emission Microscope* (SPEM). Este dispositivo conta com dois imageadores independentes de orifícios múltiplos. Neste caso, as câmaras CCD são estruturalmente similares a câmaras CCD convencionais, exceto por que incluem um conjunto de registros multiplicativos entre as etapas de aquisição e leitura. Estes registros amplificam o sinal de carga, minimizando o efeito do ruído eletrônico na etapa de leitura. No SPEM, o sinal produzido pelo cintilador colunar é transferido por meio de um intensificador de imagens para a EMCCD, introduzindo uma amplificação adicional do sinal (MENG, 2006). A resolução espacial tomográfica reportada é de perto dos 120 µm quando usado um colimador de 16 orifícios de 150 µm de diâmetro e observando como fonte de radiação uma semente de ¹²⁵I (FU *et al.*, 2007), ou de perto de 400 µm usando um colimador de 7 orifícios de 450 µm de diâmetro e fonte de ^{99m}Tc (REIS *et al.*, 2012; MEJIA *et al.*, 2013).

Detectores Semicondutores a Temperatura Ambiente

Como uma alternativa aos cintiladores, foi proposto o uso de uma tecnologia recente de semicondutores baseados em Telureto de Cádmio (CdTe) ou Telureto de Cádmio e Zinco (CZT). Diferente dos semicondutores mais comuns, baseados em Silício ou Germânio, os CdTes e CZTs são apropriados para trabalhar como detectores a temperatura ambiente. Outra característica importante destes detectores é a sua resolução espectral. Tipicamente, valores melhores que 4% (FWHM) a 122 keV e de 1 a 2% (FWHM) a 662 keV podem ser atingidos (CHEN *et al.*, 2008; PERKINS *et al.*, 2003), diferente dos detectores cintiladores, em que valores de 7,5% (FWHM) a 122 keV e 12,5 (FWHM) a 662 keV são tipicamente encontrados. Esta resolução em energia a temperatura ambiente melhora muito a possibilidade de fazer co-registro com radiofármacos que emitem em diferentes energias. Por outro lado, resolução espacial elevada pode ser obtida com estes detectores. Resolução espacial da ordem de 0,5 mm pode ser atingida imprimindo arranjos de eletrodos individuais ou um conjunto de faixas mutuamente perpendiculares nos dois lados da peça de semicondutor (FAUST *et al.*, 2009). Assim, detectores baseados em CZTs são uma boa opção para imageamento de pequenos animais (KIM *et al.*, 2006), assim como para aplicações clínicas (BUECHEL *et al.*, 2010). Todavia, esta opção, assim como os instrumentos baseados em CCDs, não é facilmente encontrada no nosso

mercado local. Por esse motivo, focalizamos na adaptação de uma câmara de uso clínico, embora a discussão continue válida para as outras alternativas.

MAGNIFICAÇÃO: RATO OU CAMUNDONGO

Como discutido acima, quando uma câmara clínica é utilizada, magnificação é necessária para visualizar apropriadamente pequenos detalhes em órgãos de ratos ou camundongos. Existe um compromisso entre o tamanho do detector, o tamanho do pixel na imagem e o tamanho do alvo. Assim, para ilustrar, consideraremos que pretendemos fazer imagens de ratos de tamanho pequeno ou médio (150 a 250 g), cujo corpo pode ser contido em um cilindro de 50 mm de diâmetro. Se o órgão a ser estudado não estiver localizado ao longo do eixo deste cilindro, é preciso garantir que o campo de visão completo de 50 mm seja projetado sobre o detector, evitando truncamento das imagens do órgão quando este, ao rotacionar o animal, se aproxima das bordas. Também com propósitos de ilustração, consideraremos um detector de 450 mm de lado (aproximadamente, 128 pixels de 3,5 mm de lado). A magnificação máxima permitida, que corresponde à relação entre as distâncias detector-colimador e fonte-colimador ($M = d_i/d_o$), é dada pela relação geométrica:

$$M = \frac{\text{Tamandodo Detector}}{\text{Diâmetro do Tubo}} = \frac{450}{50} = 9. \quad (3)$$

Para garantir que qualquer elemento emissor dentro do tubo está sempre projetando sobre o detector, o fator de magnificação deve ser ligeiramente menor que o valor dado pela equação (3). Considerando o tamanho físico do orifício e o efeito de borrado que ele produz, deve ser usado um fator de magnificação um pouco menor, o que se faz visualmente mais evidente nas bordas da imagem projetada. Finalmente, fótons absorvidos perto das bordas do detector incidem sobre ele com uma inclinação grande. Alguns destes fótons interagem perto da superfície do detector, enquanto outros o fazem a uma profundidade maior. Por causa dessa inclinação, a imagem de uma fonte pontual projetando próximo da borda do detector aparecerá maior do que a imagem projetada próximo do centro. Portanto, sugerimos limitar o fator de magnificação de tal forma que nem toda a área do detector seja utilizada, um valor próximo de 6 sendo apropriado. Alternativamente, esse efeito pode ser recuperado aplicando ferramentas matemáticas apropriadas no algoritmo de reconstrução volumétrica. No caso de fazer imagens de camundongos, os quais podem ser contidos em um cilindro de 30 mm de diâmetro, ou de pequenas regiões centradas no eixo do cilindro (como no caso de estruturas cerebrais ou a glândula tireoide), considerações similares resultam em um fator de magnificação próximo de 10. Com esses números em mente, podemos selecionar as distâncias desde o eixo do cilindro até o colimador (também conhecida como raio de rotação) e desde o colimador até o detector. Para a primeira, sugerimos 50 e 30 mm para ratos e camundongos, respectivamente, o que dá para a segunda um valor próximo de 300 mm.

Finalmente, podemos usar esses números para determinar o tamanho do elemento de volume no modelo reconstruído da distribuição de radiofármaco no alvo. Se as projeções têm elementos de imagem de 3,5 mm × 3,5 mm (este valor depende da configuração da gama-câmara e deve ser obtido experimentalmente), a sua projeção no plano através do centro do volume reconstruído terá dimensões de 0,58 mm e 0,35 mm, para os casos de ratos e camundongos, respectivamente. Esses valores são diferentes para cada plano em profundidade no alvo, e não correspondem à resolução espacial, mas dão uma boa ideia do menor tamanho que pode ser identificado no objeto.

COLIMADORES: NÚMERO DE ORIFÍCIOS, TAMANHO E MATERIAIS

Colimadores de Orifício Simples e Multiorifícios

Como já foi mostrado, o fator de magnificação implícito aos colimadores de orifício pode ser usado para garantir resolução espacial apropriada nas imagens de pequenos animais, dependendo da sua correta combinação com o diâmetro do orifício e a resolução intrínseca do detector. Contudo, sensibilidade é outro fator chave, talvez tão importante quanto resolução espacial. Sensibilidade, definida como a fração de fótons emitidos pela fonte que efetivamente atingem o detector através da área aberta do colimador, é uma função do diâmetro do orifício e da distância fonte-colimador, de acordo com a expressão:

$$S = \frac{d_{eff}^2 \cos^3(\theta)}{16d_o^2} \tag{4}$$

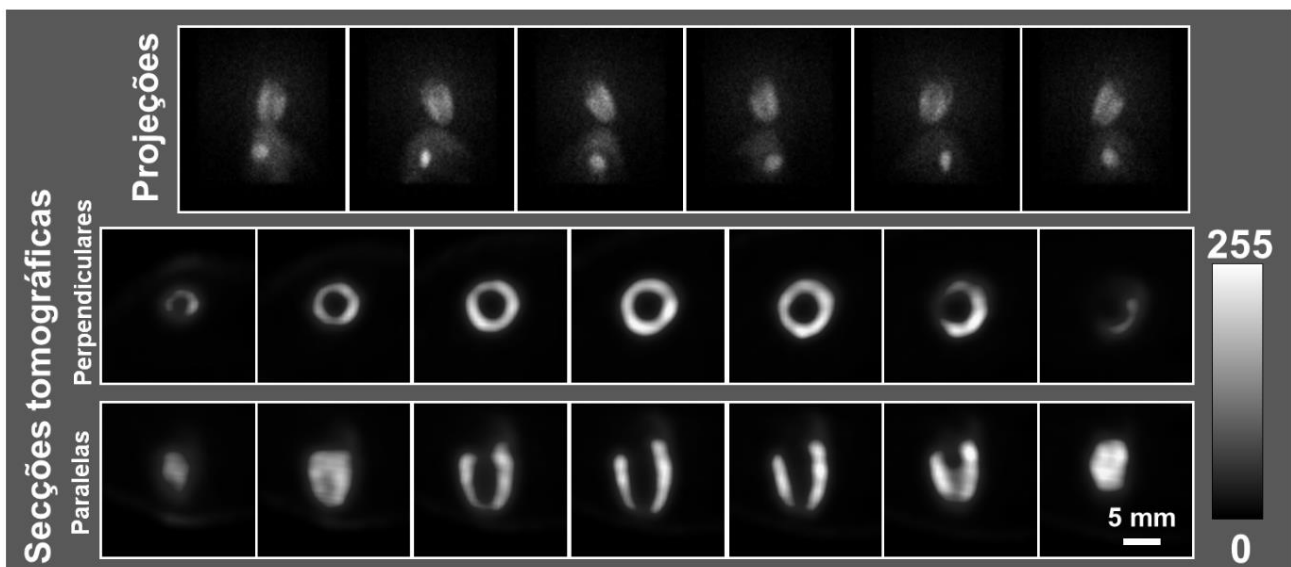
Nesta equação, o diâmetro efetivo baseado em sensibilidade, d_{eff} , é ligeiramente diferente daquele dado

pela equação (2), de acordo com a expressão (p.ex., CHERRY *et al.*, 2003):

$$d_{eff} = \sqrt{d \left(d + \frac{2 \tan(\alpha / 2)}{\mu} \right)} \tag{5}$$

De qualquer forma, uma diminuição no diâmetro do orifício melhora a resolução espacial ao mesmo tempo em que reduz a sensibilidade. Existe um compromisso entre estas duas características, e um equilíbrio deve ser encontrado. Nos nossos experimentos, um orifício de 1,5 mm de diâmetro, com um ângulo de abertura total entre 60 e 120° é uma boa opção para a maior parte das aplicações em Cardiologia, em que uma resolução espacial próxima de 1,5 mm (FWHM) é apropriada para imageamento do coração de ratos e hamsters em um lapso de tempo menor que 30 min. Como exemplo, na Fig. 2 mostramos uma sequência de projeções e cortes tomográficos perpendiculares e paralelos ao eixo principal do coração de um hamster adulto. Para essas imagens, registramos 36 projeções igualmente espaçadas em 360°, cada uma com uma duração de 30 s. A reconstrução volumétrica da distribuição do radiofármaco foi obtida usando uma ferramenta de software baseada no algoritmo de Máxima Verossimilhança (SHEPP; VARDI, 1982) com 15 iterações. Esta ferramenta foi implementada pelo nosso grupo (MEJIA *et al.*, 2010) em Linguagem C, utilizando o compilador de uso livre Dev-C++ (Bloodshed Software). Para visualização das reconstruções, utilizamos o freeware AMIDE Medical Image Data Examiner toolkit (LOENING; GAMBHIR, 2003).

Figura 2. Sequência de 6 das 36 projeções da emissão do coração, registradas com colimador de orifício de 1,5 mm de diâmetro, e seções tomográficas perpendiculares e paralelas ao eixo longo da reconstrução volumétrica da emissão do coração. Um hamster de 180 g foi injetado com 740 MBq de MIBI-^{99m}Tc, foi anestesiado com Ketamina:Xilazina (100:10 mg/Kg), e o registro foi iniciado 1,5 h após a injeção do radiofármaco.

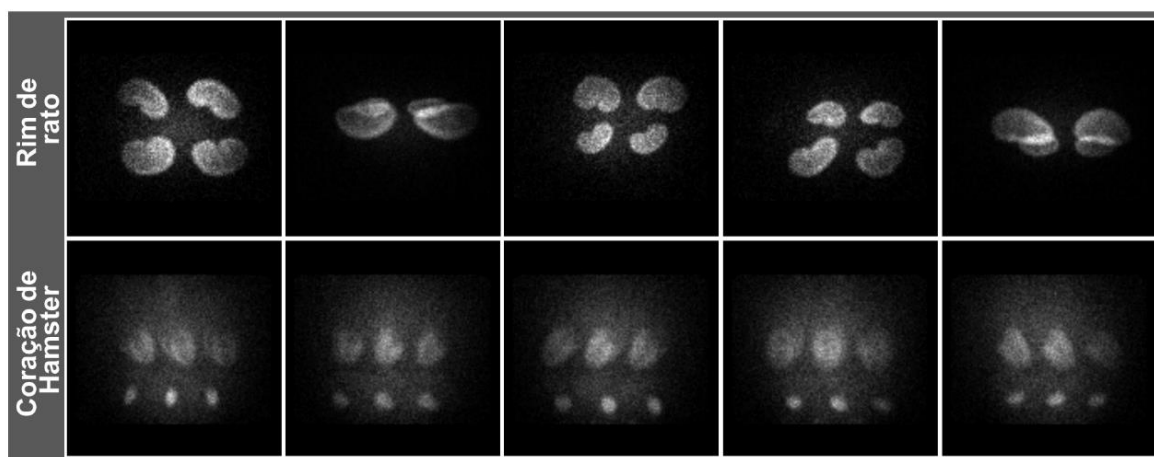


Por outro lado, colimadores multiorifícios são uma alternativa viável para aumentar a sensibilidade sem perda de resolução espacial. Com estes colimadores, cada um dos orifícios projeta uma imagem individual do alvo sobre o detector. Dependendo do número e da distribuição dos orifícios, do tamanho do alvo e do fator de magnificação, as imagens individuais podem ser independentes umas das outras, projetando sobre diferentes áreas do detector, ou podem ter algum grau de sobreposição. Alguns autores discutem que, na medida em que a sobreposição aumenta, uma ambiguidade é introduzida na determinação da origem da emissão no alvo, o que dificulta a obtenção do modelo volumétrico do objeto (BEEKMAN; HAVE, 2007; VUNCKX *et al.*, 2008; BARRETT *et al.*, 2008). Não obstante, outros grupos afirmam que quando esses colimadores são usados, o ganho em sensibilidade é suficiente para compensar a perda na relação sinal-ruído (CAO *et al.*, 2005) ou, alternativamente, tomografia com um número reduzido de projeções, talvez uma única projeção, é possível (MU; LIU, 2006; MU *et al.*, 2009). Nossa proposta é utilizar tantos orifícios quanto for possível, desde que a sobreposição seja minimizada, principalmente se uma gama-câmara com detector de grande área estiver disponível, desta forma fazendo um uso mais eficiente da área sensível do detector. Na Fig. 3, mostramos um conjunto de projeções dos rins de rato e do coração de hamster, obtidos usando colimador de orifício duplo ou triplo, respectivamente. As imagens individuais dos órgãos foram projetadas sobre áreas independentes do detector, as quais não seriam usadas se um colimador de orifício único fosse usado, com um mínimo de sobreposição. Com esta estratégia, obtivemos um aumento na sensibilidade de entre 1,5 e 2,5 vezes, se comparado com o colimador de orifício simples, o que permite uma redução do tempo necessário para o registro, da atividade aplicada ao animal ou um incremento na significância estatística das imagens. É importante ressaltar que, em alguns casos, mais de um órgão é marcado com o mesmo radiofármaco. Este é o caso quando se estuda o coração do hamster com MIBI-^{99m}Tc,

quando há emissão presente do fígado, dos rins e da vesícula biliar. Nessa situação, cuidado especial deve ser tomado para evitar sobreposição das imagens de diferentes órgãos através de diferentes orifícios. Como uma alternativa, utilizamos um anteparo de chumbo, material opaco à radiação gama, para dividir fisicamente o detector em duas regiões independentes, evitando que a imagem do fígado ou dos rins, produzida por um orifício, se sobreponha à imagem do coração formada por outro orifício.

Uma alternativa de colimador, que consiste de um grande conjunto de orifícios formando arranjos especiais, tem sido emprestada da Astrofísica, onde encontramos principalmente fontes pontuais localizadas no infinito. Esses arranjos são chamados de Máscaras Codificadas, e têm a propriedade de que existem distribuições complementárias a cada arranjo tal que a correlação cruzada entre eles resulta em uma função delta (FENIMORE; CANNON, 1978). Depois do registro da imagem, uma etapa de decodificação é aplicada, em que a imagem é correlacionada com o padrão complementar da máscara (FENIMORE; CANNON, 1981). Fontes a distâncias muito grandes não apresentam diferenças em profundidade, de tal forma que a imagem final é bidimensional, em oposição aos modelos tomográficos de alvos próximos. Neste caso, existe um fator de magnificação que depende da profundidade, que torna ineficiente o procedimento de decodificação direta. Tem sido proposto considerar este fator de magnificação e que padrões de decodificação com dimensões espaciais variáveis sejam correlacionados com a projeção registrada para identificar planos individuais em profundidade (p.ex., MU; LIU, 2006; ACCORSI, 2005). Este argumento parece válido apenas para alvos esparsos, já que sempre há uma contribuição cruzada entre os diferentes planos, evidenciada quando se correlacionam o padrão da máscara e padrões de decodificação de diferentes tamanhos, o que não resulta mais em funções delta (MEJIA *et al.*, 2009).

Figura 3. Imageamento com colimadores multiorifício. Projeções dos rins e do coração de pequenos animais de experimentação registradas com colimadores de orifício duplo e triplo, respectivamente. Um rato de 350 g foi injetado com 333 MBq de DMSA-^{99m}Tc e um hamster de 180 g foi injetado com 555 MBq de MIBI-^{99m}Tc. Os dois animais foram anestesiados com Ketamina:Xilazina (100:10 mg/kg), e o registro das imagens foi iniciado 1,5 h após a injeção do radiofármaco.



Ainda assim, algum esforço tem sido feito para aplicar algoritmos alternativos na decodificação de imagens obtidas com máscaras codificadas para obter modelos tridimensionais do alvo utilizando projeções individuais ou uma quantidade reduzida delas, ou ainda para usar esta técnica no estudo de fontes compactas de radiação, como é o caso do linfonodo sentinela (FUJII et al., 2011).

Materiais para os Colimadores

Em relação aos materiais para o colimador e a blindagem, deve ser lembrado que, neste tipo de instrumentos, a imagem é formada bloqueando a maior parte da radiação emitida pela fonte. Assim, o material selecionado deve ter alta densidade e ser opaco à radiação gama. Com estas propriedades, algumas opções apropriadas incluem chumbo, ouro, tungstênio, platina ou cerobend. As características correspondentes para esta aplicação estão indicadas na Tabela 1. Ao mesmo tempo, o material do colimador deve ser duro, porém de fácil manuseio, e deve estar disponível no mercado local. Dos materiais mencionados na Tabela 1, o chumbo é a opção mais barata, assim como a mais fácil de ser obtida. Entretanto, é um material mole, o que dificulta construir insertos de orifício de pequenas dimensões bem acabados. Uma alternativa ao chumbo é o cerobend, muito usado na área de Radiologia. Também é um material de custo relativamente baixo e com a importante propriedade de ter um ponto de fusão baixo (próximo dos 75 C), o que facilita fundir peças sobre moldes plásticos ou reutilizar o material para produzir novas peças. Todavia, considerando simultaneamente as propriedades de opacidade, custo, dureza e disponibilidade no mercado

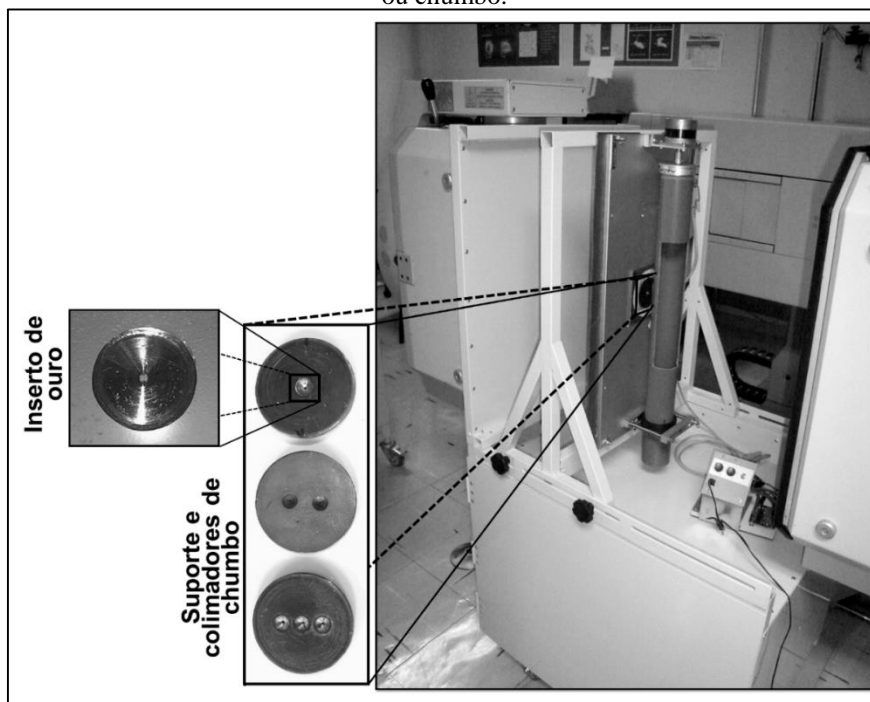
local, na nossa opinião o ouro é a melhor opção. Este material é relativamente fácil de adquirir, não é muito mais caro que o tungstênio ou a platina, e existe um bom conhecimento entre os ourives sobre o seu manuseio e as técnicas de produção de joias finas e detalhadas. Na Fig. 4 mostramos alguns exemplos de insertos de colimador feitos em chumbo e ouro. O inserto de ouro foi feito com formato de duplo cone, com 0,5 mm de diâmetro e ângulo de abertura total de 90°, em uma pequena peça cilíndrica, a qual é montada sobre uma peça de chumbo. Orifícios maiores foram feitos diretamente na peça de chumbo ou de cerobend.

Tabela 1: Características físicas dos materiais para colimadores

Material	Coefficiente de absorção fotoelétrica a 140 keV [cm ² /g]	Densidade [g/cm ³]	Opacidade de uma peça de 1 mm a 140 keV [%]
Chumbo	1,999	11,34	89,6
Tungstênio	1,683	19,25	96,5
Ouro	1,999	19,32	97,9
Platina	1,940	21,45	98,4
Cerobend(*)	1,835	9,70	83,1

(*) Também conhecido como metal de Wood: 0,5 Bi + 0,267 Pb + 0,133 Sn + 0,1 Cd por peso.

Figura 4. MiniSPECT na câmara DST/Sopha. Montado sobre um carro independente, o sistema pode ser fixado a diferentes equipamentos imageadores, o que faz dele uma solução multiplataforma. Alternando diferentes suportes para o alvo, animais de diferentes tamanhos podem ser avaliados, fazendo dele um instrumento multipropósito. Nesta imagem, o dispositivo foi fixado a uma câmara DST/Sopha. No inserto, os colimadores disponíveis, com orifícios perfurados em ouro ou chumbo.



Para resumir os desenvolvimentos de hardware, na Fig. 4 mostramos o instrumento implementado. Pode ser visto que o dispositivo foi montado sobre um carro, tal que não está fixo a uma câmara específica, o que o torna uma solução multiplataforma. O suporte do animal na imagem corresponde a rato adulto jovem, porém tubos de diferentes diâmetros podem ser usados, permitindo estudar desde camundongos até ratos grandes, e fazendo deste um instrumento multipropósito. Finalmente, produzir e registrar as projeções é apenas metade do desafio. É necessário gerar o modelo tridimensional da distribuição do radiofármaco no alvo. Este é um problema de software, que será discutido na seção a seguir.

ALGORITMOS DE RECONSTRUÇÃO VOLUMÉTRICA

No ambiente clínico, as projeções da emissão gama do alvo são comumente obtidas utilizando colimadores de orifícios paralelos, embora colimadores do tipo fan-beam ou cone-beam sejam usados em condições especiais (p.ex., ACCORSI, 2008). Essas projeções são combinadas para produzir o modelo tridimensional da emissão no alvo por meio do já clássico algoritmo de Retroprojeção Filtrada (*Filtered BackProjection*, FBP), (CHERRY et al., 2003). Neste algoritmo, assume-se que a intensidade registrada em cada elemento de imagem (pixel) das projeções individuais corresponde à soma da emissão de um volume cilíndrico que passa a través do objeto, exatamente na frente do pixel e perpendicular ao detector. Para criar o modelo da distribuição volumétrica, a intensidade de cada pixel é retroprojetada para o espaço do objeto ao longo do cilindro correspondente, distribuindo o seu valor uniformemente sobre os elementos de volume individuais. Considerando a orientação angular de cada projeção, a sobreposição dos sinais retroprojetados produz um modelo volumétrico da distribuição do sinal no objeto. Adicionalmente, usando colimadores de orifícios paralelos, assume-se que fatias individuais do objeto, perpendiculares ao eixo de rotação, são independentes, de forma que a retroprojeção e a reconstrução tridimensional são feitas um plano transversal de cada vez.

Quando o algoritmo é aplicado desta forma simplificada, um padrão com formato de estrela aparece ao redor das fontes pontuais individuais, dificultando a identificação adequada e incrementando a contribuição ao ruído de fundo. Este efeito pode ser controlado registrando um número grande de projeções ao redor do alvo, com o objetivo de melhorar a amostragem angular. Adicionalmente, como ocorre com qualquer outro instrumento de imageamento, a contribuição do conteúdo de frequências espaciais do objeto às projeções é modulado pela função resposta do instrumento, sendo reduzida a

medida que a frequência aumenta. Por outro lado, no conteúdo de frequências da imagem sempre está presente uma contribuição de ruído uniforme, de forma que, a partir de um dado ponto no espectro, a contribuição do ruído se faz mais importante do que a do sinal. Para compensar esses efeitos, as projeções são correlacionadas com funções de filtragem apropriadas. Um filtro Rampa (uma função linear da amplitude com a frequência) é aplicado para ressaltar a contribuição das altas frequências na projeção. Para evitar um incremento excessivo da contribuição das altas frequências do ruído, uma função Janela é usada para modular a função Rampa. Com esta combinação, a contribuição excessiva das baixas frequências é limitada, a contribuição das frequências intermediárias é ressaltada e a contribuição das altas frequências (associadas a ruído) é limitada (GROCH; ERWIN, 2000).

No caso de projeções obtidas com colimadores de orifício, as fatias transaxiais individuais não são mais independentes. Ainda pode ser assumido que a intensidade registrada em cada elemento de imagem das projeções individuais corresponde à soma da emissão ao longo de uma região cilíndrica através do objeto. Não obstante, neste caso, esse cilindro não é perpendicular ao detector, cortando o alvo em ângulos diferentes, cujo valor depende da posição relativa da abertura no colimador e do elemento da imagem. Por esse motivo, a reconstrução volumétrica não pode mais ser feita um plano de cada vez, sendo considerada uma verdadeira reconstrução tridimensional. O algoritmo de FBP ainda pode ser usado para modelar a emissão no alvo. Contudo, tem sido proposto usar um algoritmo alternativo baseado nas propriedades físicas e estatísticas do processo de registro: o algoritmo de Máxima Verossimilhança (*Maximum Likelihood Expectation Maximization*; MLEM; (LANGE; CARSON, 1984; SHEEP; VARDI, 1982). Este algoritmo considera a estatística dos processos de emissão e de detecção, simultaneamente com tantos detalhes do processo de formação de imagens e das características do instrumento quanto for possível. Neste algoritmo, propõe-se um modelo inicial da distribuição de intensidade no alvo, tipicamente um valor unitário uniforme. Conhecendo a resposta do instrumento a uma fonte pontual (*Point Spread Function*, PSF), um conjunto de projeções modelo é construído. Estas projeções são comparadas com as projeções reais e um mapa de quocientes pixel-a-pixel é obtido. Este mapa é retroprojetado através do instrumento para o espaço do objeto, onde é usado para corrigir o modelo original do alvo. A partir deste modelo atualizado, novas projeções modelo são construídas e o processo é repetido iterativamente até atingir um critério de finalização adequado. Matematicamente, o algoritmo é descrito pela expressão a seguir:

$$I^{(w)}(i, j, k) = I^{(w-1)}(i, j, k) \left[\frac{\sum_{m,n} PSF(m, n, o; i, j, k) \sum_{p,q} I^{(l-1)}(p, q, r) PSF(m, n, o; p, q, r) P(m, n, o)}{\sum_{m,n} PSF(m, n, o; i, j, k)} \right], \quad (6)$$

em que $I^{(w-1)}(i,j,k)$ e $I^{(w)}(i,j,k)$ correspondem à distribuição de intensidade no alvo antes e depois da correção do modelo, respectivamente; $PSF(m,n,o;i,j,k)$ descreve a resposta do instrumento a uma fonte pontual como um mapa da probabilidade de que um fóton emitido no voxel (i,j,k) do objeto seja detectado no pixel (m,n) da o -ésima projeção; e $P(m,n,o)$ representa o conjunto das projeções reais. Por um tempo relativamente longo, este algoritmo foi desconsiderado por causa dos exigentes requisitos de cômputo. Entretanto, com o desenvolvimento atual dos computadores, esse não é mais um problema real. Adicionalmente, se comparado com o algoritmo FBP, o algoritmo MLEM parece produzir reconstruções de melhor qualidade em termos de relação sinal-ruído e contribuição do ruído de fundo (CHATZIOANNOU et al., 2000; FRESE et al., 2003), a pesar de que este ponto ainda é objeto de controversias. Por esses motivos, este é o algoritmo preferido para reconstrução da distribuição volumétrica da emissão do alvo em aplicações pré-clínicas, em que órgãos de animais são estudados.

CONCLUSÕES

Durante os últimos anos, trabalhamos na procura de uma solução de baixo custo para obter imagens tomográficas funcionais *in vivo* de órgãos de pequenos animais de laboratório. Desenvolvemos um instrumento para obter imagens tomográficas SPECT de alta qualidade de órgãos de pequenos animais, a partir de uma câmara de uso clínico, e algumas ferramentas de hardware e software adicionais, que podem ser facilmente encontradas ou desenvolvidas no mercado local. O elemento mais dispendioso deste desenvolvimento, o detector de raios gama, pode ser obtido usando um instrumento clínico no seu tempo livre ou aproveitando um aparelho retirado do serviço. Apresentamos e discutimos as vantagens e desvantagens de diferentes aspectos do instrumento como, p.ex., materiais para blindagem e colimação, e formato, tamanho e quantidade dos orifícios no colimador. As ferramentas de software utilizadas para sincronizar o movimento do alvo com o protocolo de registro da câmara clínica, assim como para gerar as reconstruções tridimensionais, foram desenvolvidas pelos autores usando um compilador de Linguagem C de uso livre. Adicionalmente, o instrumento foi pensado para ser independente da câmara disponível, de tal forma que possa ser transportado e facilmente adaptado às circunstâncias locais. Todos esses aspectos fazem deste desenvolvimento uma boa opção para melhorar experimentos pré-clínicos, fazendo um melhor uso dos animais, melhorando aspectos éticos e econômicos, e reduzindo incertezas estatísticas já que os animais podem ser usados como os seus próprios controles. O instrumento desenvolvido está sendo usado em estudos pré-clínicos em Cardiologia relacionados com identificação e quantificação de tamanho de infarto do miocárdio e na avaliação de alterações anátomo-funcionais em modelos animais de doenças cardíacas. Adicionalmente, o aparelho pode ser usado para estudos nas áreas de, p. ex., Nefrologia, Oncologia e Neurologia. É importante ressaltar que este tipo de instrumento é apenas uma parte da solução

ao problema do monitoramento *in vivo* por imageamento. Tanto o modelo animal quanto o radiofármaco apropriado fazem parte deste conjunto, de forma que, se bem selecionados e combinados, permitirão explorar totalmente as capacidades desta ferramenta de estudo. Acreditamos que com este desenvolvimento, abrimos a possibilidade de que grupos de pesquisa com orçamento limitado possam aproveitar as vantagens que as técnicas de imagem molecular têm a oferecer.

AGRADECIMENTOS

Os autores desejam agradecer às equipes técnicas dos Setores de Medicina Nuclear do Hospital de Clínicas – FMRP – USP e do Hospital de Base – FAMERP, por sua colaboração no preparo e manipulação dos alvos durante os ensaios. J. Mejia recebeu apoio da FAPESP, processos 07/50339-3 e 07/58052-5.

REFERÊNCIAS

- ACCORSI, R., METZLER, S. D. Resolution-Effective Diameters for Asymmetric-Knife-Edge Pinhole Collimators. **IEEE Trans Med Imaging**. v. 24, p. 1637-1646, 2005.
- ACCORSI, R. Analytic Derivation of the Longitudinal Component of the Three-Dimensional Point-Spread Function in Coded-Aperture Laminography. **App Opt**. v. 44, p. 5872-5883, 2005.
- ACCORSI, R. Brain Single-Photon Emission CT Physics Principles. **AJNR Am J Neuroradiol**. v. 29, p. 1247-1256, 2008.
- BARRA, F. R.; BARRA, R. R.; BARRA SOBRINHO, A. Freeware Medical Image Viewers: Can We Rely Only on Them? **Radiol Bras**. v. 43, p. 313-318, 2010.
- BARRETT, H. H.; FURENLID, L. R.; FREED, M.; HESTERMAN, J. Y.; KUPINSKI, M. A.; CLARKSON, E.; WHITAKER, M. K. Adaptive SPECT. **IEEE Trans Med Imaging**. v. 27, p. 775-788, 2008.
- BEEKMAN, F.; VAN DER HAVE, F. The Pinhole: Gateway to Ultra-High-Resolution Three-Dimensional Radionuclide Imaging. **Eur J Nucl Med Mol Imaging**. v. 34, p. 151-161, 2007.
- BIOSCAN. NanoSPECT/CT In Vivo Preclinical Imager. <http://www.bioscan.com/molecular-imaging/nanospect-ct>.
- BUECHEL, R. R.; HERZOG, B. A.; HUSMANN, L.; BURGER, I. A.; PAZHENKOTTIL, A. P.; TREYER, V.; VALENTA, I.; VON SCHULTHESS, P.; NKOULOU, R.; WYSS, C. A.; KAUFMANN, P. A. Ultrafast Nuclear Myocardial Perfusion Imaging on a New Gamma Camera with Semiconductor Detector Technique: First Clinical Validation. **Eur J Nucl Med Mol Imaging**. v. 37, p. 773-778, 2010.

- CAO, Z. X.; BAL, G.; ACCORSI, R.; ACTON, P. D. Optimal Number of Pinholes in Multi-Pinhole SPECT for Mouse Brain Imaging - A Simulation Study. **Phys Med Biol.** v. 50, p. 4609-4624, 2005.
- CHATZIOANNOU, A.; QI, J.; MOORE, A.; ANNALA, A.; NGUYEN, K.; LEAHY, R.; CHERRY, S. R. Comparison of 3-D maximum a Posteriori and Filtered Backprojection Algorithms for High-Resolution Animal Imaging with MicroPET. **IEEE Trans Med Imaging.** v. 19, p. 507-512, 2000.
- CHEN, H.; AWADALLA, S. A.; HARRIS, F.; LU, P.; REDDEN, R.; BINDLEY, G.; COPETE, A.; HONG, J.; GRINDLAY, J.; AMMAN, M.; LEE, J. S.; LUKE, P.; KUVVETLI, I.; BUDTZ-JORGENSEN, C. Spectral Response of THM Grown CdZnTe Crystals. **IEEE Trans Nuc Science.** v. 55, p. 1567-1572, 2008.
- CHERRY, S. R.; SORENSON, J. A.; PHELPS, M. E. Physics in Nuclear Medicine. **Elsevier Science, Philadelphia**, 2003.
- FAUST, A. A.; ROTHSCCHILD, R. E.; LEBLANC, P.; MCFEE, J. E. Development of a Coded Aperture X-Ray Backscatter Imager for Explosive Device Detection. **IEEE Trans. Nuc. Sci.**, v 56, p. 299-307, 2009.
- FENIMORE, E. E.; CANNON, T. M. Coded Aperture Imaging with Uniformly Redundant Arrays. **App Opt.** v. 17, p. 337-347, 1978.
- FENIMORE, E. E.; CANNON, T. M. Uniformly Redundant Arrays - Digital Reconstruction Methods. **App Opt.** v. 20, p. 1858-1864, 1981.
- FRESE, T.; ROUZE, N. C.; BOUMAN, C. A.; SAUER, K.; HUTCHINS, G. D. Quantitative Comparison of FBP, EM, and Bayesian Reconstruction Algorithms for the IndyPET Scanner. **IEEE Trans Med Imaging.** v. 22, p. 258-276, 2003.
- FU, G.; TAN, J. W.; MENG, L. J. Aperture Design for Ultra-high Resolution SPECT Systems for Small Animal Imaging. **IEEE Nucl Sci Symp Conf Rec.** v. 4, p. 2785-2790, 2007.
- FUJII, H.; IDOINE, J. D.; GIOUX, S.; ACCORSI, R.; SLOCHOWER, D. R.; LANZA, R. C.; FRANGIONI, J. V. Optimization of Coded Aperture Radioscintigraphy for Sentinel Lymph Node Mapping. **Mol Imaging Biol.** v. 14, p. 173-182, 2011.
- GROCH, M. W.; ERWIN, W. D. SPECT in the Year 2000: Basic Principles. **J Nucl Med Technol.** v. 28, p. 233-244, 2000.
- KIM, H.; FURENLID, L. R.; CRAWFORD, M. J.; WILSON, D. W.; BARBER, H. B.; PETERSON, T. E.; HUNTER, W. C.; LIU, Z.; WOOLFENDEN, J. M.; BARRETT, H. H. SemiSPECT: A Small-Animal Single-Photon Emission Computed Tomography (SPECT) Imager Based on Eight Cadmium Zinc Telluride (CZT) Detector Arrays. **Med Phys.** v. 33, p. 465-474, 2006.
- LANGE, K.; CARSON, R. EM Reconstruction Algorithms for Emission and Transmission Tomography. **J Comput Assist Tomogr.** v. 8, p. 306-316, 1984.
- LOENING, A. M.; GAMBHIR, S. S. AMIDE: A Free Software Tool for Multimodality Medical Image Analysis. **Mol Imaging.** v. 2, p. 131-137, 2003.
- MADSEN, M. T. Recent Advances in SPECT Imaging. **J Nucl Med.** v. 48, p. 661-673, 2007.
- MAHMOOD, S. T.; ERLANDSSON, K.; CULLUM, I.; HUTTON, B. F. Design of a Novel Slit-Slat Collimator System for SPECT Imaging of the Human Brain. **Phys Med Biol.** v. 54, p. 3433-3449, 2009.
- MEJIA, J.; GALVIS-ALONSO, O. Y.; BRAGA, J.; CORREA, R.; LEITE, J. P.; SIMÕES, M. V. Methodological Approaches to Planar and Volumetric Scintigraphic Imaging of Small Volume Targets with High Spatial Resolution and Sensitivity. **Braz J Med Biol Res.** v. 42, p. 692-699, 2009.
- MEJIA, J.; GALVIS-ALONSO, O. Y.; BRAGA, J.; LEITE, J. P.; SIMÕES, M. V. Planar and Tomographic (SPECT) Imaging of Small Volume Targets Using a Cross-Slit Collimator. **IEEE Nucl Sci Symp Conf Rec.** p. 3397-3402, 2010.
- MEJIA, J.; GALVIS-ALONSO, O. Y.; CASTRO, A. A.; BRAGA, J.; LEITE, J. P.; SIMÕES, M. V. A Clinical Gamma Camera-based Pinhole Collimated System for High Resolution Small Animal SPECT Imaging. **Braz J Med Biol Res.** v. 43, p. 1160-1166, 2010.
- MEJIA, J.; REIS, M. A.; MIRANDA, A. C.; BATISTA, I. R.; BARBOZA, M. R.; SHIH, M. C.; FU, G.; CHEN, C. T.; MENG, L. J.; BRESSAN, R. A.; AMARO, E. Performance assessment of the single photon emission microscope: high spatial resolution SPECT imaging of small animal organs. **Braz J Med Biol Res.** v. 46, n. 11, p. 936-942, 2013.
- MENG, L. J. An Intensified EMCCD Camera for Low Energy Gamma Ray Imaging Applications. **IEEE Trans Nuc Science.** v. 53, p. 2376-2384, 2006.
- METZLER, S. D.; ACCORSI, R.; NOVAK, J. R.; AYAN, A. S.; JASZCZAK, R. J. On-Axis Sensitivity and Resolution of a Slit-Slat Collimator. **J Nucl Med.** v. 47, p. 1884-1890, 2006.
- MILLER, B. W.; BARBER, H. B.; BARRETT, H. H.; WILSON, D. W.; CHEN, L. A Low-Cost Approach to High-Resolution, Single-Photon Imaging Using Columnar

- Scintillators and Image Intensifiers. **IEEE Nucl Sci Symp Conf Rec.** v. 6, p. 3540-3545, 2006.
- MILLER, B. W.; FURENLID, L. R.; MOORE, S. K.; BARBER, H. B.; NAGARKAR, V. V.; BARRETT, H. H. System Integration of FastSPECT III, a Dedicated SPECT Rodent-Brain Imager Based on BazookaSPECT Detector Technology. **IEEE Nucl Sci Symp Conf Rec.** p. 4004-4008, 2009.
- MOK, G. S.; TSUI, B. M.; BEEKMAN, F. J. The Effects of Object Activity Distribution on Multiplexing Multi-Pinhole SPECT. **Phys Med Biol.** v. 56, p. 2635-2650, 2011.
- MU, Z. P.; HONG, B. M.; LI, S. M.; LIU, Y. H. A Novel Three-Dimensional Image Reconstruction Method for Near-Field Coded Aperture Single Photon Emission Computerized Tomography. **Med Phys.** v. 36, p.1533-1542, 2009.
- MU, Z. P.; LIU, Y. H. Aperture Collimation Correction and Maximum-Likelihood Image Reconstruction for Near-Field Coded Aperture Imaging of Single Photon Emission Computerized Tomography. **IEEE Trans Med Imaging.** v. 25, p.701-711, 2006.
- PERKINS, J. S.; KRAWCZYNSKI, H.; DOWKONTT, P. Characterizing IMRAD CZT Detectors with Time Resolved Anode and Cathode Signals, Proceedings of the 13th International Workshop on Room-Temperature Semiconductor X- and Gamma-Ray Detectors. 2003. http://xxx.lanl.gov/PS_cache/astro-ph/pdf/0310-0310910v2.pdf.
- REIS, M. A.; MEJIA, J.; BATISTA, I. R.; BARBOZA, M. R.; NOGUEIRA, S. A.; WAGNER, J.; CABRAL, F. R.; DAVOGLIO, P. M.; ABÍLIO, V. C.; FU, G.; LI, M.; MENG, L. J.; SHIH, M. C.; CHEN, C. T.; AMARO, J. R. E.; BRESSAN, R. A. SPEM: a state-of-the-art instrument for high resolution molecular imaging of small animal organs. **Einstein.** v. 10, n. 2, p. 209-215, 2012.
- SHEPP, L. A.; VARDI, Y. Maximum likelihood Reconstruction for Emission Tomography. **IEEE Trans Med Imaging.** v. 1, p.113-122,1982.
- TANG, Q.; ZENG, G. L.; HUANG, Q. An Analytical Algorithm for Skew-Slit Collimator SPECT with Uniform Attenuation Correction. **Phys Med Biol.** v. 51, p. 6199-6211, 2006.
- VAN DER HAVE, F.; VASTENHOUW, B.; RAMAKERS, R. M.; BRANDERHORST, W.; KRAH, J. O.; JI, C.; STAELENS, S. G.; BEEKMAN, F. J. U-SPECT-II: An Ultra-High-Resolution Device for Molecular Small-Animal Imaging. **J Nucl Med.** v. 50, p.599-605, 2009.
- VUNCKX, K., SUETENS, P., NUYTS, J. Effect of Overlapping Projections on Reconstruction Image Quality in Multipinhole SPECT. **IEEE Trans Med Imaging.** v. 27, p.972-983, 2008.
- ZAIDI, H.; PRASAD, R. Advances in Multimodality Molecular Imaging. **J Med Phys.** v. 34, p.122-128, 2009.
- ZAMAN, M. U.; HASHMI, I.; FATIMA, N. Recent Developments and Future Prospects of SPECT Myocardial Perfusion Imaging. **Ann Nucl Med.** v. 24 p.565-569, 2010.