

# Utilização de Partículas de Zinco em Fantoma para Simulação de Lesões de Esclerose Múltipla em Imagens de Ressonância Magnética

## Using Zinc Particles in a Phantom to Simulate Multiple Sclerosis Lesions on Magnetic Resonance Imaging

Hulder H. Zaparoli<sup>1</sup>, Marcela de Oliveira<sup>1</sup>, Paulo N. Lisboa-Filho<sup>1</sup>, Marina Piacenti-Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Física/Faculdade de Ciências/Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"- UNESP, Bauru, Brasil

### Resumo

A Esclerose Múltipla (EM) é uma doença autoimune caracterizada por causar danos na bainha de mielina, que ao se danificarem prejudicam a condução eficiente de impulsos neurais. A causa da EM engloba fatores genéticos e ambientais que contribuem para o risco da doença. Embora se acredite que esta doença seja multifatorial em etiologia, estudos apontam para um papel conjunto da exposição ambiental a metais pesados, a suscetibilidade a genes associados à resposta imune e o subsequente desenvolvimento da EM. Dentre os possíveis metais envolvidos como agentes externos causadores da EM, encontra-se o Zinco (Zn), o qual pode desempenhar um papel significativo na patogênese da doença, caracterizado pela sua alta concentração no sistema nervoso central e do seu envolvimento na fisiologia do cérebro. Assim, a interrupção da homeostase do Zn pode estar associada ao desenvolvimento de doenças neurodegenerativas. O principal exame utilizado para detectar alterações encefálicas em pacientes com EM é a imagem por ressonância magnética (MRI). Na MRI, a EM é caracterizada por apresentar lesões encefálicas onde ocorre o processo de neurodegeneração. Estudos em MRI buscam incluir o mapeamento quantitativo de marcadores, além de uma avaliação qualitativa da imagem. Embora o mapeamento quantitativo de marcadores como metais possa aumentar significativamente a quantidade, a confiabilidade e a comparabilidade dos dados obtidos em imagens médicas, exige-se a padronização cuidadosa dos protocolos e o desenvolvimento de objetos de referência padrão ou estruturas de calibração (fantomas) para validar a precisão dessas medições *in vivo* e avaliar a capacidade de repetição e reprodutibilidade das medidas nas imagens. Assim, esse trabalho teve como propósito a utilização e identificação de zinco nas imagens de ressonância magnética obtidas utilizando um objeto simulador (fantoma) de encéfalo, a fim de simular as lesões causadas pela EM.

**Palavras-chave:** Esclerose múltipla; imagem de ressonância magnética; zinco; fantoma.

### Abstract

*Multiple sclerosis (MS) is an autoimmune disease characterized by causing damage to the myelin sheath, which, when damaged, impairs the efficient conduction of neural impulses. The cause of MS includes genetic and environmental factors that contribute to the risk of the disease. Although this disease is believed to be multifactorial in etiology, studies point to a joint role for environmental exposure to heavy metals, susceptibility to genes associated with the immune response and the subsequent development of MS. Among the possible metals involved as external agents that cause multiple sclerosis, there is Zinc (Zn), as this element can play a significant role in the pathogenesis of MS, characterized by its high concentration in the central nervous system and its involvement in physiology of the brain. Thus, interruption of Zn homeostasis may be associated with the development of neurodegenerative diseases. The main test used to detect brain changes in patients with MS is magnetic resonance imaging (MRI). In the MRI, MS is characterized by brain lesions where the neurodegeneration process occurs. MRI studies seek to include quantitative mapping of markers, in addition to a qualitative image assessment. Although quantitative mapping of markers such as metals can significantly increase the quantity, reliability and comparability of data obtained from medical images, careful standardization of protocols and the development of standard reference objects or calibration structures (phantoms) are required to validate the accuracy of these measurements *in vivo* and to evaluate the repeatability and reproducibility of the measurements in the images. Thus, this work had as purpose the use and identification of zinc in the magnetic resonance images obtained using a brain simulator object (phantom), in order to simulate the injuries caused by MS.*

**Keywords:** Multiple sclerosis; magnetic resonance imaging; zinc; phantom.

### 1. Introdução

O principal exame utilizado para detectar alterações encefálicas em pacientes com esclerose múltipla (EM) é a imagem por ressonância magnética (MRI, do inglês: *Magnetic Resonance Imaging*) (1). A EM é uma doença neurodegenerativa caracterizada por prejudicar as células do sistema nervoso central (neurônios), afetando principalmente a substância branca do cérebro e suas funções, ocasionando danos na bainha de mielina (lesões desmielinizantes) que prejudicam a condução eficiente de impulsos neurais (2). A MRI apresenta grande sensibilidade

para demonstração *in vivo* das lesões desmielinizantes no encéfalo e medula espinhal (1,3). A imagem comumente é obtida utilizando exames com sequências T1 pré e pós-gadolinio intravenoso, e sequências T2 ou FLAIR (do inglês *Fluid Attenuated Inversion Recovery*) para a localização das lesões, permitindo o adequado preenchimento dos critérios diagnósticos da doença (4). As imagens observadas em T1 possuem um sinal de alta intensidade na substância branca saudável e um sinal de baixa intensidade (hipointenso) nas lesões, as quais possuem tons mais escuros conhecidos como *black holes* (5). Já as imagens realizadas nas sequências

T2 e FLAIR, as lesões escleróticas apresentam um sinal de alta intensidade, sendo assim visualizadas por um hipersinal na imagem. A diferença entre ambas é que na sequência T2, tanto a água quanto o líquido cefalorraquidiano (líquor) também apresentam um sinal de alta intensidade. Assim, a sequência FLAIR torna-se a sequência mais utilizada no diagnóstico da EM, pois consegue eliminar o sinal do líquido, atingindo níveis de contraste satisfatórios para a detecção de lesões (6).

As lesões de EM aparecem na maioria das vezes como lesões elípticas ou ovóides, particularmente na substância branca periventriculares, possuem localização "Dawson Fingers", apresentam bordas ou margens bem circunscritas e tamanhos que variam de 3 a 5 milímetros (7). Para o diagnóstico e acompanhamento da EM, verifica-se na MRI elementos essenciais como: a disseminação espacial das lesões escleróticas (surto clínico expressando episódios inflamatórios agudos acontecendo em áreas diversas do sistema nervoso central (SNC)); e a disseminação temporal (episódios acontecendo em momentos distintos na história da doença) (8).

A causa da EM é multifatorial, onde há fatores genéticos, inflamatórios e ambientais (9). Pesquisas que examinam a exposição ambiental a metais pesados, a suscetibilidade a genes associados a uma resposta imune e o subsequente desenvolvimento da doença, ainda são pouco conhecidas (10). Seguindo essa perspectiva, alguns estudos relacionam a causa etiológica de várias doenças neurodegenerativas, incluindo a EM, com o possível papel dos metais (11,12,13,14). Em decorrências dessas pesquisas, constatou-se que o zinco (Zn), um oligoelemento essencial para todos os organismos (11,12), é um dos possíveis metais envolvidos como agente externo causador da EM cujas alterações de níveis no organismo têm consequências no sistema nervoso, reprodutivo e imunológico. A alta concentração de Zn no SNC e seu envolvimento na fisiologia cerebral, podem ser significativos na patogênese da EM. A interrupção da homeostase de Zn é causada por lesões cerebrais agudas e doenças neurodegenerativas, cujas circunstâncias exemplificam a possibilidade desse metal ser alvo de tratamento da EM (2).

O mapeamento quantitativo de marcadores como metais, que possibilita um aumento significativo da quantidade, da confiabilidade e da comparabilidade dos dados obtidos em imagens médicas, exige uma padronização cuidadosa dos protocolos aplicados e o desenvolvimento de um fantoma. O objeto simulador, também conhecido como fantoma, é um dispositivo amplamente utilizado na área de controle de qualidade e dosimetria de equipamentos de imagens médicas. São objetos de referência e calibração que garantem, em um controle de qualidade, a boa formação e reprodutibilidade da imagem (15). Assim, esses equipamentos pretendem simular características anatômicas, fisiológicas e biológicas de uma determinada região do corpo, permitindo simular uma área específica de interesse, bem como o estudo de suas características (15,16,17).

Diante do exposto, esse trabalho teve como objetivo a utilização de partículas de zinco em um fantoma para simulação de lesões de esclerose múltipla em imagens de ressonância magnética.

## 2. Materiais e Métodos

Nesta etapa, foi realizado o estudo e seleção dos protocolos específicos das MRIs para pacientes com EM, bem como a montagem do objeto simulador (fantoma) com as primeiras soluções de partículas de Zn para teste. O fantoma foi projetado e confeccionado em acrílico (polimetil-metacrilato: PMMA), devido ao fato de ser um objeto simulador para utilização no equipamento de ressonância magnética. Na Figura 1 está representada uma foto real do fantoma utilizado nesta pesquisa.



Figura 1. Foto real do objeto simulador (fantoma).

O objeto simulador é constituído por nove orifícios, no qual foram inseridas soluções aquosas em diferentes concentrações das partículas de óxido de zinco (sintetizadas e caracterizadas previamente). As concentrações das soluções foram baseadas em estudos da literatura das concentrações de metais em amostras cerebrais utilizando técnicas analíticas (14,18). Os orifícios do objeto simulador foram preenchidos com água Mili-Q e as partículas de Zn em suspensão. Para o compartimento representando o tecido biológico do organismo para simulação referente à substância branca, o mesmo também foi preenchido por água Mili-Q.

Na Figura 2 observa-se o planejamento experimental utilizado no preparo e posicionamento das concentrações das partículas de Zn para simulação das lesões escleróticas. Nos orifícios numerados de 1 a 8, indicado na Figura 2, foram inseridas soluções aquosas em diferentes concentrações das partículas de Zn e no orifício 9 inseriu-se o Gadolínio, utilizado como agente de contraste de controle.

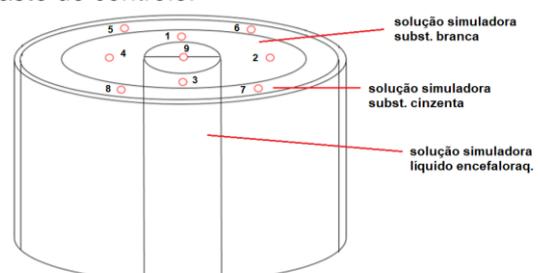


Figura 2. Planejamento experimental do objeto simulador

Este trabalho realizou dois estudos experimentais. A quantidade de partículas de Zn, na realização dos dois experimentos (E1 e E2), inseridas em cada orifício, estão listadas na Tabela 1.

**Tabela 1.** Quantidade de Zn. Os orifícios 2, 8 e 9 tiveram um volume total de 2 ml e os demais orifícios 3 ml.

Orifícios	Massa E1 (g)	Massa E2 (g)
1	0,0001	0,0050
2	0,0002	0,0060
3	0,0006	0,0121
4	0,0012	0,0210
5	0,0050	0,0300
6	0,0060	0,0500
7	0,0121	0,0475
8	0,0210	0,0300 + HNO <sub>3</sub>
9	0,0050	0,0050

Fonte: O autor (2021).

Após a preparação do fantoma, com as diferentes concentrações das partículas de Zn, submeteu-se o objeto simulador ao exame de ressonância magnética. A obtenção das MRIs do objeto simulador foi feita no equipamento *Siemens Verio 3.0* Tesla. A sequência de pulsos e o protocolo utilizado foi o mesmo utilizado nos pacientes com EM, seguindo as recomendações descritas pelo *Consortium of Multiple Sclerosis Centers* (19). As realizações dos exames de RM foram compostas por: I) 3 *scouts* de localização da região de interesse (nesse trabalho a região de interesse foi o crânio, devidamente simulado pelo fantoma) nos planos coronal, sagital e axial; II) sequência axial T1, T2 e FLAIR; e III) sequência sagital T1 e FLAIR.

**Tabela 2.** Protocolo das sequências realizadas para obtenção das MRIs do fantoma. TE: tempo de eco, TR: tempo de repetição, Sq: sequências, FL: FLAIR. Dimensões: T1 (416 x 512 x 40), T2 (384 x 384 x 30) e FL (512 x 512 x 40).

Planos	Sq	Voxel (mm <sup>3</sup> )	Resolução (Pixel/mm)	TE (ms)	TR (ms)
	T1	0,43 x 0,43 x 4,0	2,33	6,5	334
Axial	T2	0,57 x 0,57 x 4,0	1,755	96	9090
	FL	0,43 x 0,43 x 4,0	2,33	95	8000
Sagital	T1	0,98 x 0,98 x 0,98	1,02	2,42	1800
	FL	0,50 x 0,50 x 1,0	2,00	400	5000

Fonte: O autor (2021)

A Tabela 2 mostra os detalhes das sequências que foram utilizadas para obtenção das imagens do fantoma nos experimentos E1 e E2.

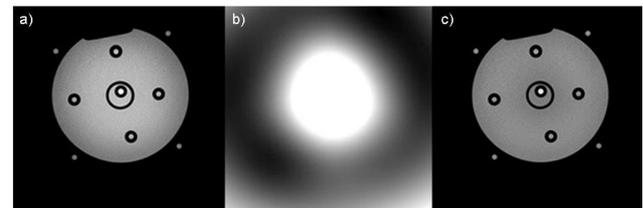
### 3. Resultados

As imagens do objeto simulador nos dois experimentos foram obtidas após a realização dos exames de RM seguindo o protocolo para pacientes com esclerose múltipla. A análise das imagens foi feita através dos *Softwares* ImageJ e 3D Slicer. Inicialmente, as imagens passaram por um pré-processamento para garantir que tivessem a mesma

padronização e normalização (correção de homogeneidade e alinhamento espacial).

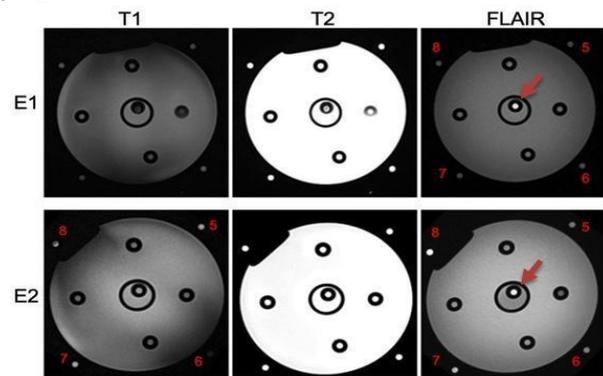
Através do operador *Resample Image* (BRAINS) do *3D Slicer* (20) foi possível realizar o alinhamento espacial para que as diferentes sequências (T1, T2 e FLAIR), tivessem a mesma dimensão espacial. Para isso, aplicou-se uma transformação de dimensão para que as sequências T2 e FLAIR assumissem o mesmo tamanho de T1. Assim, todas as sequências ficaram com uma dimensão de (0,43 x 0,43 x 4,0 mm<sup>3</sup> e 416 x 512 x 40 voxels).

Para correção da homogeneidade, foi utilizado o operador morfológico *N4ITK*, o qual foi responsável por realizar a correção de *bias* (21). Tal processo utilizou o auxílio de um filtro de normalização de intensidades, que possibilitou estabelecer a homogeneidade da intensidade de sinal na imagem. Todas as sequências passaram pela correção de homogeneidade. Na Figura 3 pode-se observar um exemplo de uma imagem original FLAIR obtida do fantoma, o filtro de correção de homogeneidade e a imagem final corrigida.



**Figura 3.** a) MRI original do fantoma, b) filtro de correção, e c) imagem corrigida.

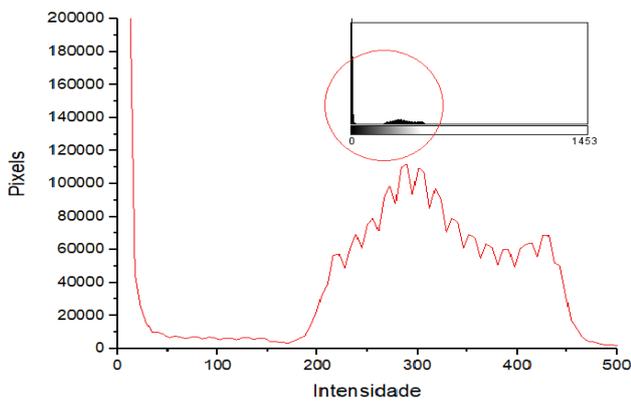
A Figura 4 ilustra as imagens obtidas nos experimentos E1 e E2, das sequências axiais T1, T2 e FLAIR.



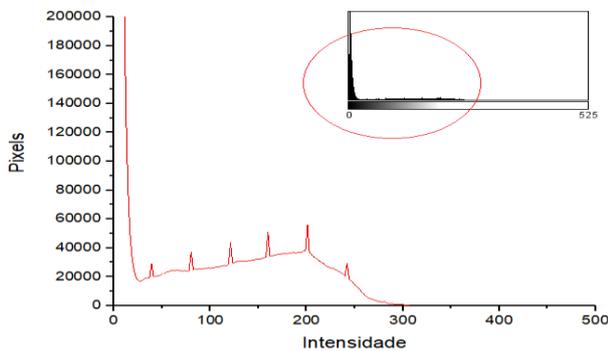
**Figura 4.** MRIs obtidas das sequências axiais T1, T2 e FLAIR dos dois experimentos realizados.

Além das imagens, também foi possível a obtenção dos histogramas correspondentes às sequências realizadas, permitindo a identificação e análise das tonalidades distintas presentes na imagem. Nas Figuras 5 e 6 pode-se observar os histogramas das sequências FLAIR e T1, respectivamente.

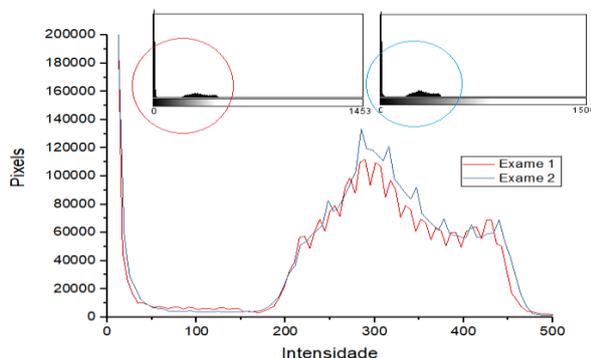
Em seguida realizou-se uma comparação entre os histogramas das sequências FLAIRs obtidas do E1 (que possui uma menor concentração de partículas de zinco no fantoma) e do E2 (que apresenta uma maior concentração). Na Figura 7, pode-se observar os histogramas dos dois experimentos com seus respectivos gráficos da região de destaque sobrepostos.



**Figura 5.** Histograma da sequência axial FLAIR no canto superior direito e região em destaque para melhor visualização da distribuição de sinal.

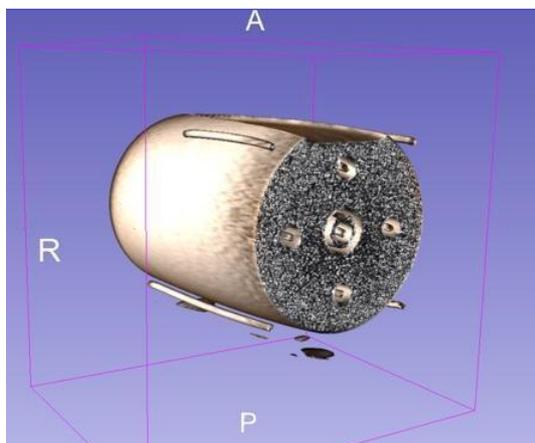


**Figura 6.** Histograma da sequência axial T1 no canto superior direito e região em destaque para melhor visualização da distribuição de sinal.



**Figura 7.** Histograma de comparação entre as distribuições de sinal para as sequências FLAIR de E1 (em azul) e E2 (vermelho).

Por fim, ainda foi possível a reconstrução tridimensional do objeto simulador utilizado na pesquisa, conforme representado na Figura 8.



**Figura 8.** Representação tridimensional do fantoma

#### 4. Discussão

Analisando as imagens obtidas na Figura 4, pode-se observar que para o E1, todos os orifícios do objeto simulador onde estavam alocadas as partículas de zinco, não apresentaram mudanças visuais de intensidade de sinal, independente da sequência (T1, T2 ou FLAIR). Apenas foi observado o sinal da amostra de controle (representado pela seta vermelha na Figura 4).

Com relação ao exame E2, foi possível notar visualmente uma diferença de intensidade de sinal para as diferentes concentrações alocadas nos orifícios de 5, com 0,0300 g de Zn, a 8 com 0,0300 g de Zn em ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>). Essas alterações na intensidade de sinal, puderam ser visualizadas tanto na sequência T1 como na FLAIR. Em contrapartida, na sequência T2 não foi possível observar essa mudança de sinal, uma vez que nessa sequência a água, utilizada para preencher os espaços entre os tubos do objeto simulador, aparece disposta em tons mais claros, semelhante à tonalidade das lesões de EM (ambas com um sinal hiperintensos).

Em relação aos histogramas apresentados nas Figuras 5 e 6 e aos gráficos destacando a região de interesse para o estudo, ambos na mesma escala para intensidade de sinal (0 - 500) e para número de pixels (0 - 2000000), observou-se diferentes comportamentos entre T1 e FLAIR. Para as duas sequências observou-se uma elevada quantidade de voxels em torno da intensidade zero, a qual corresponde ao *background* da imagem. Além disso, notou-se uma diferença na distribuição das demais intensidades para as duas sequências. Tais diferenças vistas em ambos histogramas estão relacionadas com a mudança nas características do pulso. Os valores de pulsos utilizados na sequência T1 produzem um sinal com valores mais baixos, ao passo que na sequência FLAIR, os pulsos utilizados permitem uma característica com valores mais hiperintensos.

Para a sequência FLAIR (Figura 5), pode-se notar uma região de maior distribuição de intensidade entre 200 e 450, com um pico característico aproximado em 300. Já com relação à sequência T1 (Figura 6), diferentemente da primeira análise, o comportamento da distribuição de intensidades se concentrou nos valores entre 25 a 300.

Com relação a Figura 7, pode-se fazer uma análise da comparação de ambos os exames, E1 e E2, para o plano axial da sequência FLAIR. Foi utilizado a mesma escala de intensidade (0 - 500) e de voxels (0 - 200000) para facilitar a comparação dos histogramas. Ambos os gráficos apresentam comportamentos semelhantes em relação à quantidade de voxels, apresentando uma maior quantidade de voxels na região próxima ao zero e também uma região de picos entre 200 a 500 de intensidade. Porém, no E2 para essa segunda faixa de picos, notou-se uma maior quantidade de voxels para cada valor de intensidade em relação ao E1, sendo seu maior valor registrado de 133027 voxels para a intensidade de 284,984. Tal diferença pode estar associada com a maior quantidade de

partículas de zinco presentes no fantoma, e assim, um consequente aumento de voxels com uma determinada hiperintensidade.

Estes foram os resultados preliminares obtidos a partir dos dois primeiros experimentos realizados com o objeto simulador. As análises realizadas possibilitaram a visualização de diferentes sinais de intensidade nos orifícios do fantoma utilizando as partículas de zinco em diferentes concentrações. Esses resultados mostram o potencial de utilizar as partículas de zinco como material simulador de lesão.

## 5. Conclusões

Neste trabalho, partículas de zinco foram utilizadas como simuladores de lesão esclerótica em um fantoma de encéfalo. Nos dois experimentos realizados até o momento, as avaliações das imagens de ressonância magnética comprovaram a variação da intensidade de sinal em relação à mudança de concentrações das partículas de zinco. Assim, os resultados indicam a possibilidade de utilizar este material para simulação de lesões escleróticas no encéfalo.

## Agradecimentos

Os autores agradecem à Agência de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP (processos 2017/20032-5 - 2019/16362-5 - 2020/03022-9) pelo apoio financeiro nesta pesquisa.

## Referências

- Thompson AJ, Banwell BL, Barkhof F, Carroll WM, Coetzee T, Comi G, et al. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *The Lancet Neurology*. 2018;17(2):162–73.
- Choi BY, Jung JW, Suh SW. The emerging role of zinc in the pathogenesis of multiple sclerosis. *International journal of molecular sciences*. 2017;18(10):2070.
- Bernardino IC, Carvalho VRJ de. DIAGNÓSTICO DA ESCLEROSE MÚLTIPLA EM FOCO NO EXAME DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA. In: II Congresso Internacional do Grupo Unis. Fundação de Ensino e Pesquisa do Sul de Minas; 2016.
- Klein PC. Detecção de lesões de esclerose múltipla em imagens de ressonância magnética do tipo Fluid Attenuated Inversion Recovery (FLAIR). Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2016.
- Bakshi R, Thompson AJ, Rocca MA, Pelletier D, Dousset V, Barkhof F, et al. MRI in multiple sclerosis: current status and future prospects. *Lancet Neurol*. julho de 2008;7(7):615–25.
- Farias FR. Geração de imagens para a quantificação das lesões de esclerose múltipla com exames de ressonância magnética do cérebro humano utilizado no protocolo de rotina da prática clínica. 23 de abril de 2014;
- Pinto RIP. Segmentação Automática de Lesões de Esclerose Múltipla em Imagens de Ressonância Magnética. 2017;
- Santos VM. Diagnóstico de esclerose múltipla por ressonância magnética. *Revista Remecs - Revista Multidisciplinar de Estudos Científicos em Saúde*. abril de 2019;3(5):3–13.
- Belbasis L, Bellou V, Evangelou E, Ioannidis JPA, Tzoulaki I. Environmental risk factors and multiple sclerosis: an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. *Lancet Neurol*. março de 2015;14(3):263–73.
- Napier MD, Poole C, Satten GA, Ashley-Koch A, Marrie RA, Williamson DM. Heavy metals, organic solvents, and multiple sclerosis: An exploratory look at gene-environment interactions. *Archives of environmental & occupational health*. 2016;71(1):26–34.
- Bredholt M, Frederiksen JL. Zinc in multiple sclerosis: A systematic review and meta-analysis. *ASN neuro*. 2016;8(3):1759091416651511.
- Oraby MI, Hussein M, Abd Elkareem R, Elfar E. The emerging role of serum zinc in motor disability and radiological findings in patients with multiple sclerosis. *The Egyptian Journal of Neurology, Psychiatry and Neurosurgery*. 2019;55(1):1–5.
- Tamburo E, Varrica D, Dongarrà G, Grimaldi LME. Trace elements in scalp hair samples from patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *PLoS One*. 2015;10(4):e0122142.
- de Oliveira M, Gianeti TMR, da Rocha FCG, Lisboa-Filho PN, Piacenti-Silva M. A preliminary study of the concentration of metallic elements in the blood of patients with multiple sclerosis as measured by ICP-MS. *Scientific Reports*. 4 de agosto de 2020;10(1):13112.
- Keenan KE, Ainslie M, Barker AJ, Boss MA, Cecil KM, Charles C, et al. Quantitative magnetic resonance imaging phantoms: a review and the need for a system phantom. *Magnetic resonance in medicine*. 2018;79(1):48–61.
- Laubach HJ, Jakob PM, Loevblad KO, Baird AE, Bovo MP, Edelman RR, et al. A phantom for diffusion-weighted imaging of acute stroke. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. 1998;8(6):1349–54.
- Mattila S, Renvall V, Hiltunen J, Kirven D, Sepponen R, Hari R, et al. Phantom-based evaluation of geometric distortions in functional magnetic resonance and diffusion tensor imaging. *Magnetic Resonance in Medicine: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*. 2007;57(4):754–63.
- Grochowski C, Blicharska E, Krukow P, Jonak K, Maciejewski M, Szczepanek D, et al. Analysis of trace elements in human brain: its aim, methods, and concentration levels. *Frontiers in chemistry*. 2019;7:115.
- Simon JH, Li D, Traboulsee A, Coyle PK, Arnold DL, Barkhof F, et al. Standardized MR imaging protocol for multiple sclerosis: Consortium of MS Centers consensus guidelines. *American Journal of Neuroradiology*. 2006;27(2):455–61.
- Johnson H, Harris G, Williams K. BRAINSFIT: Mutual information registrations of whole-brain 3D Images, using the insight toolkit. 1º de janeiro de 2007;
- Tustison NJ, Avants BB, Cook PA, Zheng Y, Egan A, Yushkevich PA, et al. N4ITK: improved N3 bias correction. *IEEE Trans Med Imaging*. junho de 2010;29(6):1310–20.

## Contato:

Hulder Henrique Zaparoli  
 Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”-UNESP, Bauru  
 Av. Eng. Luiz Edmundo Carrijo Coube, 14-01-Vargem  
 Limpa, Bauru/SP, 17033-360, Brasil  
 hulder.zaparoli@unesp.br