

## IMAGEAMENTO MOLECULAR DE ESPÉCIME VEGETAL POR MICRO-PET/CT A PARTIR DA CAPTAÇÃO DE 18F- FLUORDESOXIGLICOSE

Matheus A. R. Costa<sup>1</sup>; Edson W. da Silva<sup>1</sup>; Brígida G. A. Schirmer<sup>1</sup>; Neura M. da Silva<sup>1</sup>; Luciana M. H. Silva<sup>1</sup>; Elvis J. De França<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro Regional de Ciências Nucleares do Nordeste, Av. Prof. Luiz Freire, 200 – Curado, Recife - PE

**Palavras-Chave:** Tratamento de imagem, 18F-FDG, Radiotraçador.

### Introdução

O uso da imagem molecular, especialmente a Tomografia por Emissão de Pósitrons acoplado a Tomografia Computadorizada - *Positron Emission Tomography / Computed Tomography* (PET/CT), continua em constante evolução no estudo de diversas patologias, representando uma ferramenta poderosa na medicina para diagnosticar e avaliar doenças, especialmente câncer, doenças cardiovasculares, neuropatologias, dentre outras. A PET é uma das técnicas de imagem mais sensíveis e eficazes para detectar níveis muito baixos de um radiotraçador específico, inclusive para quantificar a captação do radionuclídeo, sendo útil para a análise de informações bioquímicas, metabólicas, fisiológicas e funcionais a nível molecular *in vivo* (Miyaoaka; Lehnert, 2020).

Embora essa tecnologia seja amplamente usada no campo da medicina, ela vem sendo adaptada para experimentos com plantas (Ferrieri et al., 2013; Karve et al., 2015; Fatangare; Svatoš, 2016). Em estudos com plantas, esta ferramenta de imagem molecular é utilizada para investigações dos mecanismos genéticos, bioquímicos e fisiológicos subjacentes ao transporte-C e à alocação de carbono, e para rastrear processos dinâmicos, como o movimento de água, nutrientes e metabólitos através do sistema vascular da planta, além de fornecer informações sobre o comportamento das plantas sob diferentes condições ambientais (Dhondt et al., 2013; Mincke et al., 2021).

Para obtenção das imagens PET, torna-se necessária a utilização de um radioisótopo (radiotraçador emissor de pósitrons), ajudando, assim, a esclarecer sobre a fisiologia ou diagnóstico subjacente. Em estudos com plantas, destaca-se a utilização do radiocarbono (C-11), que é absorvido pelas plantas pelo processo de fotossíntese (Karve et al., 2015; Mincke et al., 2021). Contudo, o radiofármaco 18F-FDG (fluordesoxiglicose) atraiu a atenção de cientistas e tem sido usado também em estudos para imagens moleculares *in vivo* de plantas (Ferrieri et al., 2013; Fatangare; Svatoš, 2016).

A molécula radiomarcada 18F-FDG é um análogo da glicose marcado com flúor (<sup>18</sup>F), possuindo as características químicas e estruturais semelhantes a glicose. Após a absorção, a radioatividade associada a 18F-FDG transloca-se através da vasculatura da planta, realocando para o órgão onde há maior consumo metabólico, necessário para seu desenvolvimento, como reprodução, crescimento e raízes (Fatangare; Svatoš, 2016). Desta forma, o 18F-FDG vem sendo proposto como um radiotraçador para fotoassimilado em estudos de imagem de plantas.

Após aquisição dos dados em equipamentos PET/CT, torna-se necessário realizar a reconstrução para obtenção da imagem relacionada a captação do 18F, que indica sua localização nas diferentes estruturas da planta. Alguns programas de computador podem ser utilizados para realizarem o tratamento destas imagens reconstruídas, destacando-se, por exemplo, o PMOD e o *Imalytics Preclinical*. PMOD é amplamente utilizado em pesquisa biomédica e considerado uma ferramenta de referência para modelagem cinética e quantificação de PET/SPECT em oncologia/neurologia/cardiologia, fluxos de trabalho de atlas

cerebral, estudos pré-clínicos e clínicos, entre outras aplicações (Tsubaki et al., 2020; Zarcherl et al., 2023). *Imalytics Preclinical* é utilizado principalmente em pesquisas envolvendo tomografias PET, SPECT, RM, CT e imagem óptica, possibilitando a reconstrução, visualização 3D, segmentação interativa e análise de conjuntos de dados de imagens de estudos biomédicos, como pesquisa de câncer, análises farmacocinéticas, problemas gastroenterológicos ou análise óssea (Gremse et al., 2016).

Estes *softwares* auxiliam os pesquisadores na realização de análises detalhadas sobre a distribuição de moléculas radiomarcadas, estruturas anatômicas, respostas funcionais, processos biológicos e fisiológicos, contribuindo significativamente para o avanço da pesquisa translacional a partir da construção de imagens tridimensionais. Entretanto, estas ferramentas não foram desenvolvidas para o tratamento de imagens de plantas obtidas em PET/CT, sendo principalmente voltadas para área da medicina nuclear e radiodiagnóstico. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi demonstrar a aplicabilidade do imageamento molecular em um espécime de planta a partir do micro-PET/CT, após a absorção do radiofármaco  $^{18}\text{F}$ -FDG, além de comparar a utilização dos *softwares* PMOD e *Imalytics Preclinical* no tratamento de imagens.

## Material e Métodos

### *Material vegetal*

A espécie utilizada neste estudo foi a *Peperomia pelucida* (família Piperaceae) conhecida popularmente como erva de jabuti ou língua de sapo, sendo considerada uma PANC (Planta Alimentícia Não Convencional). Para a realização experimental, coletou-se a espécie com tamanho aproximado de 5 cm acima do solo e acondicionou-se em bandeja de sementeira utilizando solo como substrato. Posteriormente, as mudas foram encaminhadas para casa de vegetação para aclimatização.

### *Aplicação de radiotraçador ( $^{18}\text{F}$ -FDG) na planta*

A molécula de glicose radiomarcada ( $^{18}\text{F}$ -FDG) foi doada pela empresa R2 IBF Participações S/A, filial localizada no município de Vitória de Santo Antão no Estado de Pernambuco. No espécime vegetal selecionado para o ensaio, uma folha intermediária foi aleatoriamente escolhida para aplicação do radiofármaco. Para isso, foi realizado um corte transversal na região do ápice da folha. Em seguida, a folha excisada (cortada) foi imersa imediatamente em solução de  $^{18}\text{F}$ -FDG com atividade de 35 MBq (volume de 0,5 mL) por um período de 4 horas. Posteriormente, retirou-se a planta da solução, secou-se a folha com papel toalha para remoção de radiofármaco excedente e envolveu-se a folha em papel filme para evitar a contaminação de  $^{18}\text{F}$ -FDG nas demais estruturas da planta e no equipamento de micro-PET/CT.

### *Parâmetros de aquisição, reconstrução e tratamento da imagem PET/CT*

Para a avaliação da distribuição de  $^{18}\text{F}$ -FDG na planta, utilizou-se do equipamento micro-PET/CT da MILabs E-Class U-PET7. O tempo de escaneamento para aquisição dos dados PET foi 40 minutos, divididos em 2 frames. Os parâmetros de aquisição da imagem CT foram voltagem do tubo de 50 kV, corrente do tubo de 200  $\mu\text{A}$ , tempo de exposição de 40 ms, passos de rotação de 0,25 e número de projeções de 5, com tempo total de aquisição de 18-minutos.

Posteriormente, realizou-se a reconstrução dos dados adquiridos empregando o programa MiLabs Rec v13.14. Para a reconstrução da imagem PET os parâmetros utilizados foram: voxel de 0,6 mm, 128 subconjuntos e 10 interações. Para a reconstrução CT, os

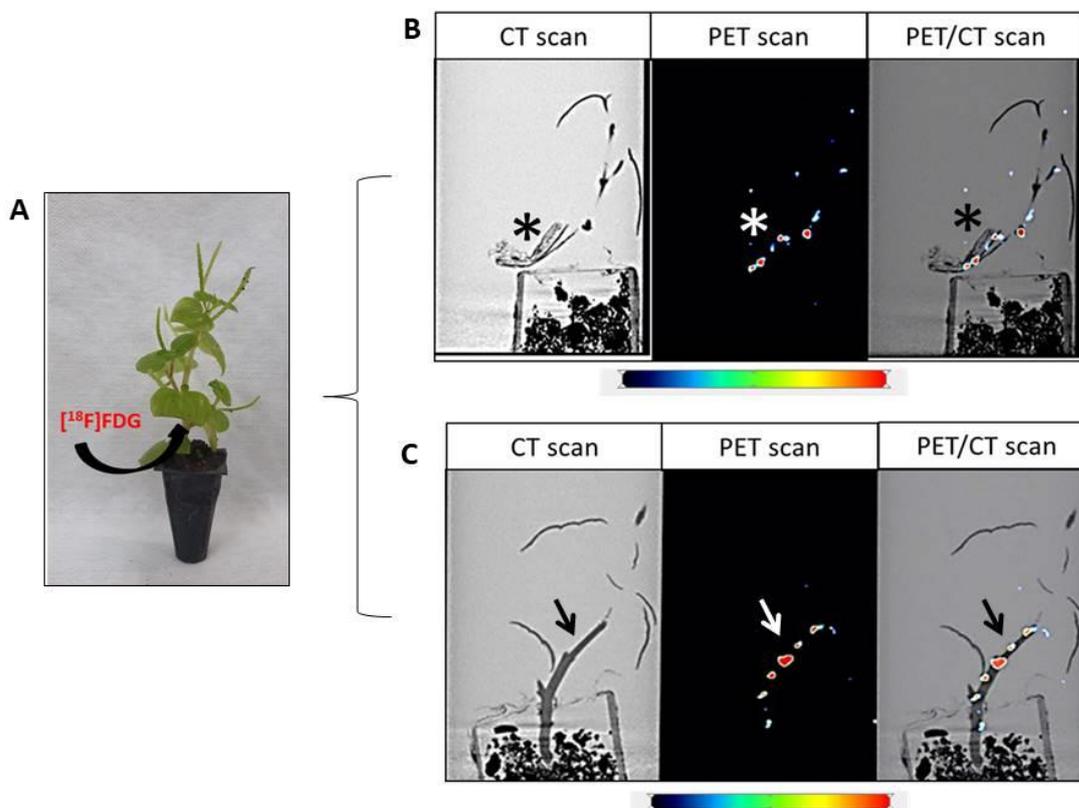
parâmetros considerados na reconstrução foram espessura de corte de 80  $\mu\text{m}$  e filtro de reconstrução Hann-Lak. Após a aquisição e reconstrução dos dados, as imagens obtidas foram analisadas utilizando-se dois softwares diferentes, PMOD 4.4 e *Imalytics Preclinical* 3.1.1.2, realizando a sobreposição da imagem CT com a imagem PET, para avaliar a aplicação destes programas em investigações de absorção e distribuição de  $^{18}\text{F}$ -FDG pelas plantas.

## Resultados e Discussão

Devido a sua popularidade na área médica e por ser uma técnica não invasiva *in vivo*, o uso da Tomografia por Emissão de Pósitrons (PET) foi estendido para a ciência das plantas. No entanto, a quantidade de estudos envolvendo plantas ainda é limitado, visto que os equipamentos são voltados principalmente para pesquisa médica, proporcionando dificuldades para sua adaptabilidade em estudos com plantas, principalmente com relação as ferramentas de processamento de imagens, que proporciona a visualização dos dados PET/CT para análise e quantificação.

Na Figura 1, observa-se a imagem CT, PET e PET/CT de dois cortes de diferentes posições da espécie em estudo tratada a partir do *software* PMOD, obtida por meio de um micro-PET/CT após catação de  $^{18}\text{F}$ FDG. No primeiro grupo de imagens (Figura 1B), observou-se o local de aplicação inicial de  $^{18}\text{F}$ FDG pela folha, mostrando a absorção para o pecíolo até a nervura central da folha. Na Figura 1C, retrata outra posição de corte, com a molécula radiomarcada detectada no caule. A imagem de PET associada ao CT mostra a localização da molécula radiomarcada nas estruturas da planta, embora, por serem cortes em 2D não foi possível observar toda a estrutura da planta na mesma imagem.

**Figura 1 – Imagem de PET/CT pós captação de  $^{18}\text{F}$ FDG utilizando o *software* PMOD**



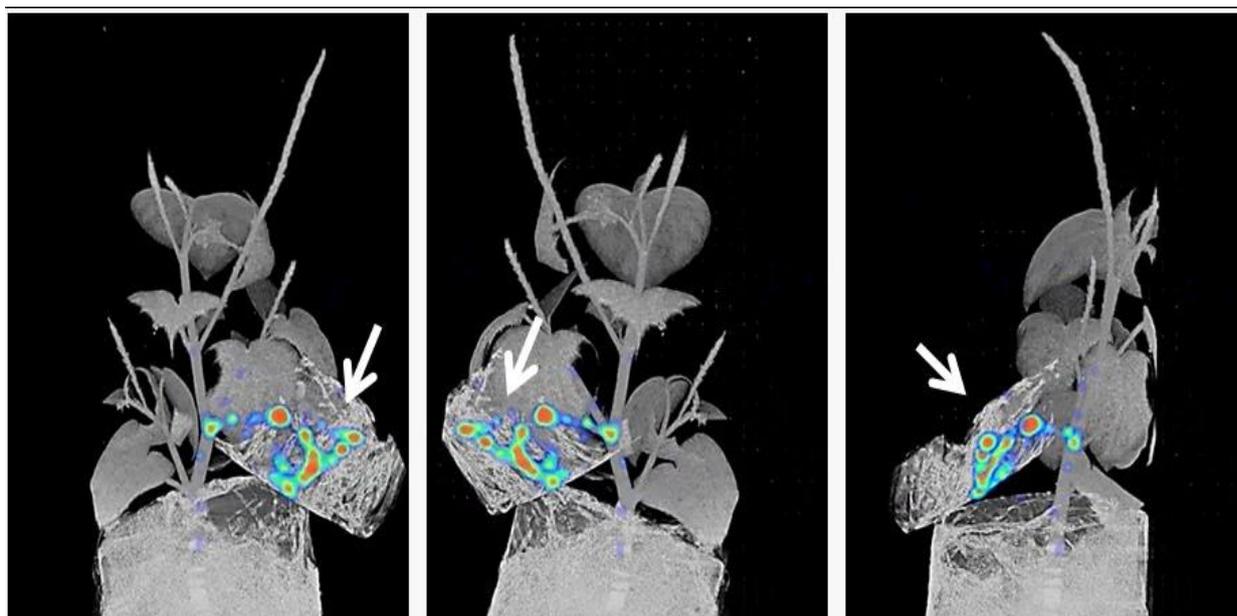
Espécie utilizada no estudo *Peperomia pelúcida*, a seta indica a folha excisada onde ocorreu a absorção da molécula radiomarcada  $^{18}\text{F}$ FDG. B) Imagem de PET/CT da planta pós absorção do  $^{18}\text{F}$ FDG. Evidenciando a absorção inicial do  $^{18}\text{F}$ FDG pela folha, como indicado pelo asterisco. C) A molécula radiomarcada foi posteriormente detectada no caule, como indicado pela seta.

Fonte: Os autores (2024).

Mesmo analisando diferentes cortes da planta pelo PMOD, não foi possível visualizar algumas estruturas com detalhes, por exemplo, as folhas. Já as estruturas mais rígidas ficaram mais evidentes, como por exemplo, os caules. Para investigar de maneira mais eficiente a realocação de  $^{18}\text{F}$ -FDG através da vasculatura da planta, torne-se necessário a análise e quantificação da imagem em 3D, contudo pela versão do PMOD que foi utilizada, não foi possível conseguir uma reconstrução de imagem 3D satisfatória.

Utilizando o *software Imalytics Preclinical*, foi possível obter uma imagem 3D mais detalhada da planta em estudo. Na Figura 2, observa-se 3 posições da imagem 3D de *Peperomia pelúcida* após captação de  $^{18}\text{F}$ -FDG utilizando o *software Imalytics Preclinical*, sendo possível verificar que a absorção  $^{18}\text{F}$ -FDG pela folha excitada foi realocado até o caule, confirmando o que foi observado na Figura 1, embora, sendo demonstrado que a estrutura da planta ficou mais detalhada.

**Figura 2 – Imagem 3D de PET/CT da planta *Peperomia pelúcida* pós captação de  $^{18}\text{F}$ -FDG utilizando o *software Imalytics Preclinical***



A seta indica o local de absorção inicial da fluorodesoxiglicose pela folha excisada.

Fonte: Os autores (2024).

Estes estudos de imagens moleculares com plantas são importantes para entender os mecanismos bioquímicos e dinâmicos das espécies vegetais (Dhondt et al., 2013; Mincke et al., 2021). O  $^{18}\text{F}$ -FDG foi utilizado para visualizar e estudar a movimentação da glicose nas partes da planta. Nas imagens tratadas nos dois programas utilizados (PMOD e *Imalytics Preclinical*), foi perceptível observar este fenômeno, com o  $^{18}\text{F}$ -FDG translocando-se através da folha para o caule da planta, seguindo em direção, possivelmente para as raízes. Essa mudança no fluxo de açúcar e seu controle é uma curiosidade contínua entre os pesquisadores, contudo, neste estudo preliminar, não foi possível verificar alocação em outras partes da planta.

As pesquisas com plantas, de maneira geral, estão sendo voltadas para explicar processos básicos, contudo, um dia ela poderá levar a novos passos. Por exemplo, auxiliar nas questões climáticas a partir da compreensão da alocação de carbono pelas plantas, entendendo onde a planta aloca carbono e que não fique disponível, contribuindo assim, para a seleção de cultivares mais apropriados para o controle das emissões antropogênicas.

## Conclusões

Embora as aplicações destes *softwares* PMOD e *Imalytics Preclinical* de tratamento de imagens moleculares sejam amplamente utilizadas para a área da medicina nuclear e radiodiagnóstico, o uso em plantas demonstrou um grande potencial para melhorar o entendimento do metabolismo de plantas e como elas reagem a diferentes condições ambientais e fisiológicas. Ambos os programas apresentam abordagens diferentes em termos de funcionalidades, interface e aplicabilidade em pesquisas, no entanto, em estudos preliminares, o *Imalytics Preclinical* mostrou-se mais adequado para estudos com plantas.

## Agradecimentos

Os autores agradecem à CAPES, ao CNPq, à FINEP e à FACEPE pelo apoio financeiro.

## Referências

- DHONDT, S.; WUYTS, N.; INZÉ, D. Cell to whole-plant phenotyping: the best is yet to come. *Trends in Plant Science*, v.18, p.428-39, 2013.
- FATANGARE, A.; SVATOŠ, A. Applications of 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose (FDG) in plant imaging: past, present, and future. *Frontiers in plant science*, v. 7, p. 1-11, 2016.
- FERRIERI, A. P.; AGTUCA, B.; APPEL, H. M.; FERRIERI, R. A.; SCHULTZ, J. C. Temporal changes in allocation and partitioning of new carbon as  $^{11}\text{C}$  elicited by simulated herbivory suggest that roots shape aboveground responses in *Arabidopsis*. *Plant physiology*, v. 161, p. 692-704, 2013.
- GREMSE, F.; STÄRK, M.; EHLING, J.; MENZEL, J. R.; LAMMERS, T.; KIESSLING, F. *Imalytics preclinical: interactive analysis of biomedical volume data*. *Theranostics*, v. 6 p. 328, 2016.
- KARVE, A. A.; ALEXOFF, D.; KIM, D.; SCHUELLER, M. J.; FERRIERE, R. A.; BABST, B. A. In vivo quantitative imaging of photoassimilate transport dynamics and allocation in large plants using a commercial positron emission tomography (PET) scanner. *BMC Plant Biology*, v. 15, p. 1-11, 2015.
- MINCKE, J.; COURTYN, J.; VANHOVE, C.; VANDENBERGHE, S.; STEPPE, K. Guide to plant-PET imaging using  $^{11}\text{CO}_2$ . *Frontiers in plant science*, v. 12, 602550, 2021.
- MIYAOKA, R. S.; LEHNERT, A. L. Small animal PET: a review of what we have done and where we are going. *Physics in Medicine & Biology*, v. 65, p. 01-84, 2020.
- TSUBAKI, Y.; AKAMATSU, G.; SHIMOKAWA, N.; KATSUBE, S.; TAKASHIMA, A.; SASAKI, M.; Development and evaluation of an automated quantification tool for amyloid PET images. *EJNMMI physics*, v. 7, p. 1-12, 2020.
- ZACHERL, M. J.; SIMENHANDRA, A.; LINDNER, M.; BARTENSTEIN, P.; TODICA, A.; BOENING, G.; FISCHER, M. A avaliação do volume e função do ventrículo esquerdo em imagens de PET/CT 18F-FDG de pequenos animais: um estudo comparativo de três ferramentas de software disponíveis comercialmente. *Pesquisa EJNMMI*, v. 13, p. 75-83, 2023.