



Instituto Politécnico de Coimbra
Instituto Superior de Engenharia de Coimbra
Escola Superior de Tecnologia da Saúde Coimbra

Desenvolvimento de aplicação para o estudo da cinética de captação de ¹⁸F-FDG em linhas celulares de cancro

Diná Isabel Bicho Trindade

**Mestrado em Sistemas e Tecnologias da Informação para a Saúde
Coimbra, dezembro, 2013**



Instituto Politécnico de Coimbra
Instituto Superior de Engenharia de Coimbra
Escola Superior de Tecnologia da Saúde Coimbra

Mestrado em Sistemas e Tecnologias da Informação para a Saúde
Projeto/Estágio I e Projeto/Estágio II

Desenvolvimento de aplicação para o estudo da cinética de captação de ¹⁸F-FDG em linhas celulares de cancro

Diná Isabel Bicho Trindade

Orientador:
Professora Doutora Maria Filomena Botelho
Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

Coimbra, dezembro, 2013

AGRADECIMENTOS

Embora este projeto seja um trabalho individual, muitos foram aqueles que, de forma direta ou indireta, contribuíram para que mais uma etapa da minha vida se concretizasse, e como tal não posso deixar de lhes agradecer:

À Professora Doutora Maria Filomena Botelho, orientadora deste projeto, pelo apoio, disponibilidade e dedicação ao longo do desenvolvimento do projeto, pelas críticas e conselhos na revisão do manuscrito e pela partilha de conhecimento e experiência.

Ao Professor Doutor Jorge Barbosa pelo apoio, disponibilidade e dedicação ao longo do desenvolvimento do projeto, pelas críticas e conselhos na revisão do manuscrito.

À Mestre Margarida Abrantes, um exemplo de trabalho e dedicação, o meu obrigado por todas as horas despendidas, por todos os ensinamentos, pela disponibilidade e apoio que me ajudou a ultrapassar cada etapa.

A todos os meus amigos que me incentivaram e apoiaram ao longo da realização deste trabalho.

Aos colegas do mestrado, pela excelente relação pessoal que criámos e que espero não se perca.

A todos os que de algum modo contribuíram para a presente projeto e que não foram especificamente designados, mas que nem por isso foram esquecidos.

E por último, a toda a minha família, por todo o apoio e carinho.

RESUMO

O cancro é uma das principais causas de morte antes dos 70 anos de idade, e no conjunto das causas de mortalidade em todas as idades, ocupa o segundo lugar depois das doenças causadas por acidentes vasculares. Morrem por ano cerca de 24,3 mil pessoas com cancro em Portugal, onde a incidência é de 43,3 mil casos. Em todo o mundo morrem cerca de 7,6 milhões de pessoas com cancro, onde a incidência é de 12,7 milhões.

Torna-se, então, essencial desenvolver novos métodos que auxiliem na investigação, aumentando as opções no diagnóstico e tratamento do cancro.

A Tomografia por Emissão de Positrões (PET) é uma tecnologia provada no domínio clínico e reconhecida como uma técnica de imagiologia molecular. As imagens são obtidas a partir de radiofármacos administrados ao doente, que podem ser detetados por equipamentos dedicados. Em oncologia são predominantes exames utilizando o radiofármaco ^{18}F -FDG, um análogo da glicose marcado com Flúor-18. Recorrendo ao equipamento LigandTracer® Yellow, cuja função é a caracterização da cinética (estudos de influxo e efluxo) de radiofármacos em linhas celulares, podemos avaliar a captação de ^{18}F -FDG pelas células de cancro, o que será um indicador da adequação do estudo com PET.

Assim, o objetivo deste trabalho consiste no desenvolvimento de um programa interativo adequado para o tratamento dos dados obtidos pelo LigandTracer® Yellow. Com esse programa pretende-se que, através de uma aplicação, seja possível extrair informação relevante, como constantes de tempo, ou outros parâmetros que permitam avaliar quantitativamente o perfil de captação e, assim, caracterizar a cinética de entrada do radiofármaco na células.

Palavras-chave: estudos de captação; radiofármacos; células cancerígenas.

ABSTRACT

Cancer is a main cause of death before the age 70 and in all causes of mortality at every age, is the second after the brain and cardiovascular diseases. In Portugal, each year, die approximately 24,3 thousand of people with cancer, where the incidence is 43.3 thousand. Worldwide die about 7.6 million of people, where the incidence of cancer is 12.7 million.

It becomes essential to develop new methods that help scientific research, increasing the options available in diagnosis and the cancer treatment.

The Positron Emission Tomography (PET) is a proven and recognized technology in the clinical domain as a technique for molecular imaging. The images are obtained from radiopharmaceuticals administered in the patient that can be detected externally by equipments. In oncology molecular imaging using ^{18}F -FDG radiopharmaceutical, an analogue of glucose labeled with Fluorine-18. Using the equipment LigandTracer® Yellow, whose function is to characterize radiopharmaceutical kinetics (influx and efflux) in cells lines that allow to evaluate the uptake of ^{18}F -FDG by cancer cells, which may be an indicator of the suitability of the study with PET.

The aim of this work is to develop an interactive program for data treatment obtained by LigandTracer® Yellow. With that program, it is intended that through an application, is able to extract relevant information, as time constants, and other parameters to assess quantitatively the uptake profile and then characterize the kinetics in cells.

Key-words: uptake studies; radiopharmaceuticals; cancer cells.

ÍNDICE

Capítulo 1 - INTRODUÇÃO	1
1.1 Enquadramento	1
1.1.1 Projeto.....	1
1.1.2 Unidade de Biofísica da FMUC	1
1.2 Objetivos.....	2
1.3 Organização do relatório	3
Capítulo 2 - ENQUADRAMENTO TEÓRICO.....	4
2.1 Cancro.....	4
2.2 Tomografia por emissão de positrões e ^{18}F-FDG.....	4
2.2.1 ^{18}F -FDG	5
2.3 Lei da Desintegração Radioativa.....	6
2.4 O sistema LigandTracer®	7
2.4.1 A tecnologia LigandTracer®	7
2.4.2 O LigandTracer® Software 1.0	9
Capítulo 3 - MÉTODOS.....	10
3.1 Análise.....	10
3.1.1 Intervenientes e descrição dos utilizadores	11
3.1.2 Necessidades dos intervenientes ou necessidades de utilizador	13
3.1.3 Características da aplicação.....	19
3.2 Desenho.....	23
3.3 Implementação.....	27
3.4 Testes.....	27
3.5 Instalação.....	28
Capítulo 4 - IMPLEMENTAÇÃO DA APLICAÇÃO	29
4.1 Módulo Tratamento de Dados.....	30
4.2 Módulo Comparar Resultados	31
4.3 Funcionalidades	32
4.3.1 Tratamento de Dados.....	32
4.3.2 Comparar Resultados.....	39
4.3.3 Sair de Estudos de Captação.....	43
Capítulo 5 - CONCLUSÕES	44
Capítulo 6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46

Capítulo 7 - ANEXOS	48
----------------------------------	-----------

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 2.1 – PACIENTE NUM DETECTOR	5
FIGURA 2.2 – LIGANDTRACER® YELLOW	7
FIGURA 2.3 – DESCRIÇÃO ESQUEMÁTICA DO LIGANDTRACER®	8
FIGURA 2.4 – RESPOSTA EM FUNÇÃO DO TEMPO DURANTE DEZASSEIS ROTAÇÕES DA CAIXA DE PETRI	8
FIGURA 2.5 – LIGANDTRACER® SOFTWARE 1.0	9
FIGURA 3.1 – GRÁFICO REPRESENTATIVO DA RESPOSTA EM FUNÇÃO DO TEMPO DURANTE ROTAÇÕES	13
FIGURA 3.2 – EXEMPLO DE UM FICHEIRO DE DADOS	14
FIGURA 3.3 – GRÁFICO REPRESENTATIVO DO PERFIL DE CAPTAÇÃO	18
FIGURA 3.4 – TRATAMENTO DE DADOS	24
FIGURA 3.5 – COMPARAÇÃO DE RESULTADOS	25
FIGURA 3.6 – INTERFACE DO MÓDULO DE TRATAMENTO DE DADOS	26
FIGURA 3.7 – INTERFACE DO MÓDULO COMPARAÇÃO DE RESULTADO	26
FIGURA 4.1 – MÓDULO TRATAMENTOS DE DADOS	30
FIGURA 4.2 – MÓDULO COMPARAR RESULTADOS	31
FIGURA 4.3 – VISUALIZAÇÃO DE DADOS IMPORTADOS DE FICHEIRO .TXT	32
FIGURA 4.4 – LISTA DE RADIONUCLÍDEOS	33
FIGURA 4.5 – LISTA DE CALIBRAÇÃO	33
FIGURA 4.6 – INFORMAÇÕES/AVISOS	33
FIGURA 4.7 – APLICAR CORREÇÃO DO TEMPO	34
FIGURA 4.8 – APLICAR LEI DA DESINTEGRAÇÃO RADIOATIVA	34
FIGURA 4.9 – VISUALIZAÇÃO DE RESULTADOS	35
FIGURA 4.10 – AJUSTE DE CURVA	36
FIGURA 4.11 – INFORMAÇÕES/AVISOS	36
FIGURA 4.12 – GRÁFICO/TABELA	37
FIGURA 4.13 – VISUALIZAÇÃO DE GRÁFICO	38
FIGURA 4.14 – CÁLCULO DA PERCENTAGEM DE CAPTAÇÃO EM FUNÇÃO DO TEMPO	38
FIGURA 4.15 – RESULTADOS EXPORTADOS PARA FICHEIRO EXCEL	39
FIGURA 4.16 – MÓDULO COMPARAR RESULTADOS	40
FIGURA 4.17 – SELEÇÃO DE COR DE LINHA DO GRÁFICO	40
FIGURA 4.18 – VISUALIZAÇÃO DE DADOS IMPORTADOS	41
FIGURA 4.19 – VISUALIZAÇÃO DE AJUSTE DE CURVA ÚNICO	42
FIGURA 4.20 – VISUALIZAÇÃO DE GRÁFICO	43

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 3.1 – O PROBLEMA	11
TABELA 3.2 – POSICIONAMENTO DA APLICAÇÃO	11
TABELA 3.3 – INTERVENIENTES	12
TABELA 3.4 – UTILIZADORES	12
TABELA 3.5 – LISTA DE RADIONUCLÍDEOS E TEMPOS DE SEMI-DESINTEGRAÇÃO	15

SIMBOLOGIA E ABREVIATURAS

CPS - Contagens por segundo

ESTESC - Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Coimbra

FMUC - Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

ISEC - Instituto Superior de Engenharia de Coimbra

MSTIS - Mestrado em Sistemas e Tecnologias da Informação para a Saúde

PET - Positron Emission Tomography

SPECT – Single Photon Emission Computed Tomography

TVF - Teorema do valor final

VF - Valor Final

^{18}F -FDG - ^{18}F - Fluorodeoxiglicose

Capítulo 1 - INTRODUÇÃO

1.1 Enquadramento

Este trabalho foi desenvolvido no âmbito da unidade curricular de Projeto do curso de Mestrado em Sistemas e Tecnologias da Informação para a Saúde (MSTIS) do Instituto Superior de Engenharia de Coimbra (ISEC) e da Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Coimbra (ESTSC), tendo sido realizado na Unidade de Biofísica da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra (FMUC).

1.1.1 Projeto

O trabalho foi realizado pela aluna Diná Isabel Bicho Trindade, número 21120580, e este documento relata o trabalho desenvolvido.

Foi orientado pela Professora Doutora Maria Filomena Botelho por parte da FMUC.

1.1.2 Unidade de Biofísica da FMUC

A Unidade de Biofísica da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra está situada no Pólo III da Universidade de Coimbra no edifício da Subunidade 1 - IBILI, Instituto de Imagem Biomédica e Ciências da Vida. Esta unidade de ensino e investigação é responsável pela docência de algumas unidades curriculares em vários mestrados integrados (Medicina, Medicina Dentária e Engenharia Biomédica), em mestrados (Patologia Experimental, Bioquímica e Investigação Biomédica), em licenciaturas (Biologia, Bioquímica, Medicina Nuclear, Análises Clínicas e Biotecnologia) e também em programas doutorais (Ciências da Saúde, 3º ciclo de Engenharia Biomédica).

A atividade de Investigação inclui projetos de investigação básica, investigação translacional e investigação clínica. Assim, em estreita colaboração com diferentes parceiros, a Unidade de Biofísica desenvolve projetos na área da radiação e imagem molecular, dosimetria da radiação e radiobiologia, cancro e oftalmologia. O foco principal da investigação da Unidade de Biofísica é desenvolver alternativas às abordagens terapêuticas disponíveis para o cancro como a terapia fotodinâmica e a radioterapia metabólica. Para isso recorre quer ao estudo da biologia do cancro, tendo em conta as condições do microambiente tumoral, como a hipoxia, que influenciam o comportamento do tumor, quer a identificação de novos alvos.

Associadamente, o estudo dos efeitos da radiação e a imagem molecular constituem importantes ferramentas metodológicas que estão na base de muitos dos projetos desenvolvidos. Para além destas áreas, em oftalmologia, a procura de alternativas terapêuticas para o retinoblastoma, assim como, outras doenças da córnea, nomeadamente a insuficiência límbica e patologias do endotélio, constituem também focos de interesse da Unidade de Biofísica.

Desde a componente *in vitro* até à clínica, a Unidade de Biofísica dispõe de laboratórios e equipamentos dedicados que permitem a investigação em biologia celular e molecular, salas de cultura de células e tecidos e microscopia de fluorescência, laboratórios dedicados à proteómica, análise de DNA e cromatografia; a investigação *in vivo*, com laboratórios de experimentação animal, câmara de ambiente controlado e acesso a biotério com várias estirpes; em medicina nuclear, com vários equipamentos dedicados, nomeadamente 2 câmaras-gama e respectivos laboratórios quente e morno. Tem também acesso a infraestruturas de Microscopia Confocal, Microscopia Electrónica de transmissão, Citometria de Fluxo e Bioluminescência Animal.

1.2 Objetivos

O presente trabalho teve como objetivo a concepção, desenvolvimento e implementação de uma aplicação capaz de efetuar o tratamento dos dados obtidos através do equipamento LigandTracer® Yellow, cuja função é a análise do número de eventos detectados por unidade de tempo de diferentes radionuclídeos. O tratamento de dados passa por conseguir ler o arquivo de dados gerado pelo equipamento, visualizar e efetuar cálculos sobre estes dados, apresentar e exportar resultados. A aplicação “Estudos de Captação” terá um interface amigável, de fácil aprendizagem e utilização.

Alunos, docentes e investigadores da Unidade de Biofísica podem analisar os dados obtidos no equipamento de uma forma rápida e eficaz, possibilitando a obtenção de parâmetros não disponíveis com o software de origem fornecido pelo fabricante do equipamento.

A aplicação, à qual foi dado o nome de “Estudos de Captação” permite ao utilizador efetuar estudos usando informação relevante extraída da aplicação, para avaliar quantitativamente o perfil de captação e caracterizar a cinética de entrada do radiofármaco na célula.

Foi necessário adquirir conhecimento sobre:

- O funcionamento do equipamento LigandTracer® Yellow e do software associado;

- Lei da desintegração radioativa;
- Radiofármacos;
- O perfil de captação de radiofármacos pela célula;

O projeto de mestrado foi dividido em quatro partes:

1. Aquisição de conhecimentos teóricos;
2. Compreensão do problema e análise do método atualmente existente na Unidade de Biofísica para o tratamento de dados;
3. Desenvolvimento da aplicação com potencial para responder às necessidades, aplicando-se os devidos conceitos adquiridos;
4. Formação da aplicação aos utilizadores.

1.3 Organização do relatório

Neste primeiro capítulo é apresentado o projeto realizado, a instituição de acolhimento, os objetivos do mesmo e a estrutura deste documento.

Posteriormente no segundo capítulo é efectuado o enquadramento teórico necessário ao desenvolvimento da aplicação.

No terceiro capítulo é descrito todo o processo de desenvolvimento da aplicação, passando pelas tarefas análise, desenho, implementação, testes e a instalação da aplicação “Estudos de Captação”.

A versão final de “Estudos de Captação” presente no quarto capítulo descreve como são executadas as funcionalidades da aplicação.

Finalmente, no quinto capítulo, são apresentadas as principais conclusões retiradas deste trabalho.

Em anexo é apresentado um exemplo de um ficheiro exportado do LigandTracer® Software 1.0, Anexo 1 e um Manual de Utilização, Anexo 2.

Capítulo 2 - ENQUADRAMENTO TEÓRICO

2.1 Cancro

O cancro é uma das principais causas de morte antes dos 70 anos de idade e no conjunto das causas de mortalidade em todas as idades, ocupa o segundo lugar depois das doenças causadas por acidentes vasculares. Muitas destas mortes seriam evitáveis através de medidas de prevenção primária (como diminuição à exposição ao tabagismo) e de prevenção secundária (diagnóstico precoce em rastreios) (Saúde, 2012).

Em Portugal morrem por ano cerca de 24,3 mil pessoas com cancro e cerca de 7,6 milhões de pessoas em todo o mundo. A incidência de cancro em Portugal é de 43,3 mil e de 12,7 milhões em todo o mundo (Cancer, 2010).

As células normais crescem, dividem-se e morrem de forma ordenada. Durante os primeiros anos de vida de um indivíduo, as células normais dividem-se mais rapidamente para permitir o crescimento e o desenvolvimento. Na vida adulta, a maioria das células dividem-se apenas para substituir as células que estão a morrer ou para reparar lesões. Ao longo da vida, o cancro surge como um crescimento descontrolado de alguns tipos de células, por alterações genéticas e/ou ambientais, em que as células não reconhecem a necessidade de iniciar processos de morte e por isso se verifica um crescimento celular descontrolado. Para além destas características, as células tumorais possuem a capacidade de produzir substâncias que favorecem a sua disseminação e implantação à distância que se traduz na capacidade de metastização (American Cancer Society, 2013).

2.2 Tomografia por emissão de positrões e ^{18}F -FDG

A Tomografia por Emissão de Positrões (PET, do inglês *Positron Emission Tomography*) é uma técnica de Medicina Nuclear que consiste na detecção e quantificação da distribuição de radiofármacos emissores de positrões, em órgãos ou sistemas biológicos. Proporciona o diagnóstico precoce e a optimização do planeamento da terapêutica com base na detecção das alterações metabólicas que precedem as anatómicas. Os exames PET permitem a obtenção de imagens tridimensionais da distribuição das moléculas marcadas através de detectores

exteriores (Figura 2.1) (Saúde 2011). Esta abordagem imagiológica pode ter várias aplicações entre elas a oncologia, a neurologia e a cardiologia.

O exame PET começa com a administração de um radiofármaco (Figura 2.1) (Cardoso 2006). Um radiofármaco, a maior parte das vezes, é constituído por dois componentes: um radionuclídeo, ou seja, um átomo radioativo com propriedades e características físicas adequadas ao procedimento desejado, e um fármaco que possua uma distribuição preferencial em determinado tecido ou órgão.

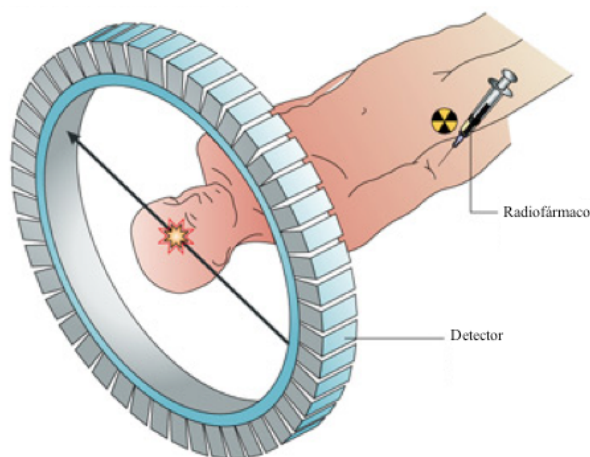


Figura 2.1 – Paciente num detector
Adaptado (Nature Reviews Cancer n.d.)

Em oncologia são predominantes exames PET utilizando como radiofármaco a ^{18}F -fluorodeoxiglicose (^{18}F -FDG), análogo da glicose (Cardoso 2006). Após a administração do ^{18}F -FDG, este vai concentrar-se nas células tumorais já que têm maior gasto energético e são, por isso, grandes consumidoras de energia.

Outros radionuclídeos são utilizados na preparação de radiofármacos, com aplicação no metabolismo ósseo, transporte de glicose, metabolismo de aminoácidos, entre outros (Cardoso 2006).

2.2.1 ^{18}F -FDG

A captação do ^{18}F -FDG pelas células está relacionada com os transportadores de glicose presentes na membrana celular os quais permitem a passagem do radiofármaco através da membrana para o citoplasma. O facto de se usar um análogo da glicose como traçador assenta no princípio de que a célula tumoral tem maior necessidade de glicose devido à sua taxa de multiplicação descontrolada relativamente à célula normal. Outro factor importante é a existência de um elevado número de proteínas transportadoras de glicose na membrana

citoplasmática das células tumorais o que, associado a um aumento dos níveis de algumas enzimas glicolíticas promovem um aumento da captação de ^{18}F -FDG. Desta forma o tecido tumoral capta maior quantidade de ^{18}F -FDG do que o tecido normal, permitindo assim a distinção entre ambos (Marie & Shinjo 2011; Macheda *et al.* 2005). A taxa de captação da glicose pelas células tumorais pode fornecer informações em relação à agressividade tumoral (Maia *et al.* 2007).

2.3 Lei da Desintegração Radioativa

A atividade de uma amostra de átomos radioativos decresce em função do tempo a uma velocidade que é característico de cada nuclídeo. Os processos radioativos seguem uma função exponencial.

A expressão 1 que representa esta lei, mostra que a diminuição do número de átomos radioativos é dada pela função exponencial do tempo:

$$N = N_0 e^{-\lambda t} \quad (1)$$

em que N é o número de átomos, t o tempo, N_0 é o valor de N para $t=0$, λ é a constante de desintegração e e a base de logaritmos Neperianos.

Cada radionuclídeo tem um tempo de semidesintegração ($T_{1/2}$) provável antes de sofrer desintegração (Lima 2005).

A constante de desintegração é calculada segundo a fórmula 2:

$$\lambda = \frac{0,693}{T_{1/2}} \quad (2)$$

Por substituição, obtêm-se uma nova expressão 3 (Lima 2005):

$$N = N_0 e^{-\left(\frac{0,693}{T_{1/2}}\right)t} \quad (3)$$

2.4 O sistema LigandTracer®

O sistema LigandTracer® é constituído por um detector de radiação incorporado no dispositivo de aquisição de contagens LigandTracer® Yellow (Figura 2.2) e um computador portátil que contém *software* para controlo do instrumento e avaliação dos resultados (AB 2008).



Figura 2.2 – LigandTracer® Yellow
(AB 2013b)

2.4.1 A tecnologia LigandTracer®

Os aparelhos LigandTracer® apresentam uma tecnologia simples e robusta na detecção de interações em tempo real. As células são preparadas numa região própria de uma caixa de Petri. A caixa de Petri é colocada sobre um suporte, inclinado, com rotação lenta. O meio de cultura que contém o radiofármaco marcado é adicionado à caixa de Petri e fica acumulado na parte inferior. A cada rotação as células alvo vão entrar em contacto com o meio de cultura. O detector é colocado na parte superior, onde é lida a zona da caixa de Petri que não contém o meio de cultura e uma resposta é registada de acordo com o representado na Figura 2.3 (AB 2013a; AB 2012; AB 2013b).

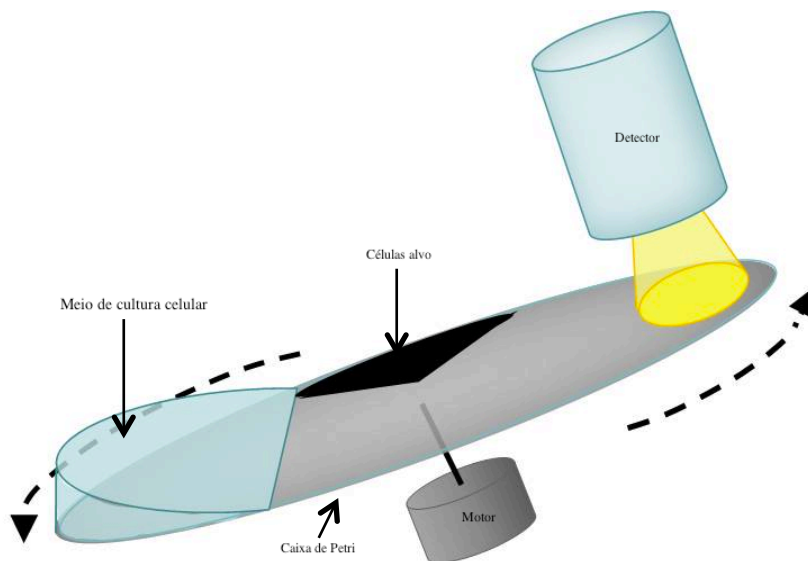


Figura 2.3 – Descrição esquemática do LigandTracer®

Adaptado (AB 2013b)

Quando o aparelho está a funcionar, a atividade é medida várias vezes por rotação de acordo com a figura 2.1. De acordo com o comportamento cinético do radiofármaco, ou seja, se o radiofármaco entra e/ou fica adsorvido na membrana e/ou sai da célula, é gerado uma resposta crescente ou decrescente. Este comportamento cinético é apresentado na forma de um gráfico como mostra a Figura 2.4. A altura do pico de cada rotação é extraído automaticamente e pode ser seguido ao longo do tempo (como em medições de captação)(AB 2013a; AB 2012).

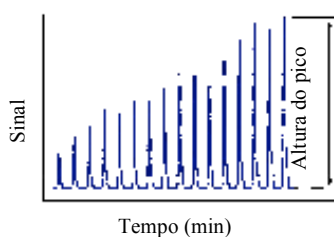


Figura 2.4 – Resposta em função do tempo durante dezasseis rotações da caixa de Petri

Adaptado (AB 2012)

A altura dos pico a partir de diferentes concentrações de radiofármaco pode ser usado para calcular a afinidade da interação (AB 2012; AB 2013b; AB 2013a).

O LigandTracer® Yellow é usado principalmente para medições de captação/retenção, o que revela a cinética da interação com as células de traçadores para PET ou para Tomografia Computadorizada de Emissão de Fotões Simples (SPECT, do inglês *Single Photon Emission Computed Tomography*). O equipamento possui um detector adequado para todos os

radionuclídeos utilizados em PET/SPECT. As medições são feitas em tempo real, mesmo para radionuclídeos de vida curta (AB 2013b).

2.4.2 O LigandTracer® Software 1.0

O instrumento LigandTracer® é controlado pelo LigandTracer® Software 1.0 (Figura 2.5) que permite configurar e executar captações ou retenções, configurar o tempo, analisar como decorre a interação e exportar dados (AB 2008).

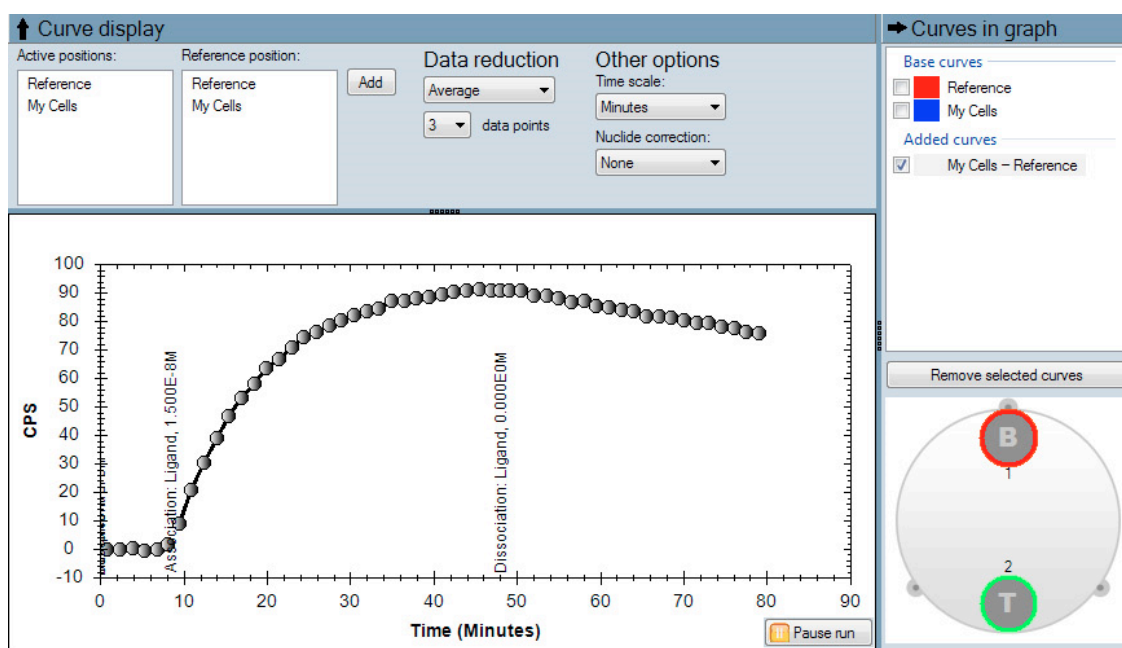


Figura 2.5 - LigandTracer® Software 1.0
(AB 2014)

Capítulo 3 - MÉTODOS

3.1 Análise

A tarefa de análise efetua o estudo detalhado da aplicação “Estudos de Captação” e o levantamento dos requisitos a implementar. Um requisito é uma funcionalidade ou condição que a aplicação deverá possuir (Silva & Videira 2001).

Foi necessário conhecer os processos envolventes com a aplicação a ser desenvolvida e para isso foram efectuadas algumas reuniões com a orientadora do projeto, a Professora Doutora Maria Filomena Botelho e com a Assistente Mestre Margarida Abrantes para se perceber os problemas que a Unidade de Biofísica pretende serem resolvidos com a aplicação a desenvolver.

Foram definidas e analisadas as necessidades e características da aplicação “Estudos de Captação”, evidenciando as potencialidades necessárias pelos utilizadores do sistema.

As necessidades são os problemas que a Unidade de Biofísica pretende ver resolvidos, os parâmetros que pensam ser indispensáveis para concluir acerca da cinética em cada linha celular a ser estudada. As características são aquilo que caracteriza um sistema, propriedades específicas do sistema.

A principal informação que se encontra neste ponto é:

- A identificação e descrição dos intervenientes e utilizadores;
- Identificação e descrição das necessidades inerentes à extração de informação da cinética nos “Estudos de Captação”;
- Identificação e descrição de todas as características a partir das necessidades identificadas;
- O tipo de problemas que intervenientes esperam ser resolvidos pela aplicação. Não descreve os seus pedidos específicos, mas sim a justificação e razão para a necessidade desses pedidos.

A Tabela 3.1 descreve o problema existente na Unidade de Biofísica e a Tabela 3.2 o posicionamento da aplicação.

Tabela 3.1 – O problema

Problema:	Aquisição de dados insuficientes utilizando o software do LigandTracer® e análise de dados realizada manualmente.
Afecta:	Investigadores, docentes e alunos.
O impacto do problema:	Atraso na extração de informação relevante para investigação.
Uma solução com sucesso passa por:	Análise de dados realizada automaticamente.

Tabela 3.2 – Posicionamento da aplicação

Para	Unidade de Biofísica - FMUC
Quem	Analisa dados para investigação.
O (nome da aplicação)	Estudos de Captação
Que	Precisa de reduzir o tempo dispensado na análise de dados.
Ao contrário	Obtenção de dados insuficientes e análise manual de dados.
A nossa aplicação	Análise automática de dados.

3.1.1 Intervenientes e descrição dos utilizadores

Para efetivamente fornecer uma aplicação que vá ao encontro das necessidades dos intervenientes e dos utilizadores, foram identificadas as reais necessidades e questões pertinentes que esta aplicação se propôs a resolver. Esta secção fornece o perfil dos intervenientes e dos utilizadores envolvidos neste trabalho.

3.1.1.1 *Resumo dos intervenientes*

Tabela 3.3 – Intervenientes

Nome	Descrição	Responsabilidades
Professora Doutora Maria Filomena Botelho	Orientadora	Orientação do projeto. Definição da orientação da aplicação. Definição dos requisitos.
Diná Trindade	Aluna do mestrado	Análise de requisitos. Documentação do projeto. Programação e implementação do projeto. Formação.
Mestre Margarida Abrantes	Assistente	Definição dos requisitos.
Investigadores, docentes e alunos	Utilizadores da aplicação	Usar a aplicação.

3.1.1.2 *Resumo dos utilizadores*

Tabela 3.4 – Utilizadores

Nome	Descrição	Responsabilidades	Interveniente
Utilizador	Pessoa que utiliza a aplicação	Produzir resultados	Investigadores, docentes e alunos

3.1.2 Necessidades dos intervenientes ou necessidades de utilizador

3.1.2.1 Obtenção de dados - LigandTracer® Yellow

É preparada uma cultura de células numa caixa de Petri colocada no suporte inclinado do LigandTracer®. À cultura que se encontra na caixa de Petri é adicionada uma amostra do traçador no início ou poucos segundos após o início da rotação. O detetor que se encontra na parte superior, efetua as medições várias vezes por rotação (Figura 2.3).

Caso o traçador se ligue ou seja captado pela célula são apresentados picos no gráfico. O valor de pico de cada rotação é extraído automaticamente e pode ser seguido ao longo do tempo. Uma resposta crescente ou decrescente é gerada, representando o comportamento cinético da interação, como mostra a Figura 3.1.

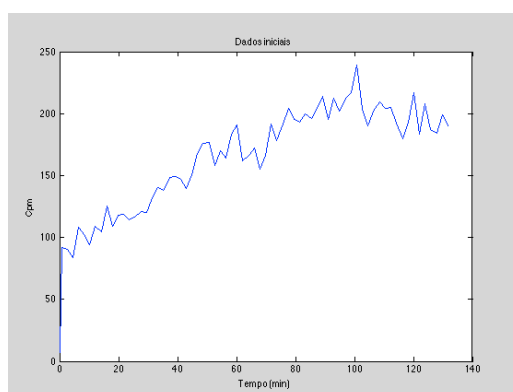


Figura 3.1 – Gráfico representativo da resposta em função do tempo durante rotações

Ligado ao equipamento está um computador onde se encontra instalado o LigandTracer® Software 1.0, que controla o equipamento, onde é possível adotar diferentes parametrizações (entre as quais o traçador utilizado), que permite obter uma visão geral de como ocorre a interação, visualizar graficamente os resultados obtidos e efetuar a exportação dos dados. A Figura 3.2 mostra um exemplo de um ficheiro de dados exportado.

```

Export filename C:\Documents and Settings\LigandTracer user\Desktop\Curvas\20120427-2
Export time 2013-01-25 13:30
Result filename New - 20120427-2-h1299
Plot name 20120427-2-h1299
Plot xlabel Time (min)
Plot ylabel Signal (CPS) half-life corrected
Property Analysis Temp 35.2 (32.7 - 36.9)
Property Analysis date 2012-04-27 15:32
Property Filename C:\Documents and Settings\LigandTracer user\My documents\2CPP
Property Instrument id RCV-020013
Property Instrument type LigandTracer
Property Software LigandTracer
Property Solid support Petri dish
Curve 0
Curve name Max-Min
Curve protected FALSE
Curve type Curve
Curve ligand
Curve concentration (M) 0.0000E0
Curve target
Curve description
X Y
0.0000E0 1.1882E2
1.9445E0 1.2341E2
3.8638E0 1.4325E2
5.7833E0 1.4512E2
7.7039E0 1.5014E2
9.6234E0 1.5121E2
1.1546E1 1.6960E2
1.3465E1 1.8219E2
1.5383E1 1.6869E2
1.7328E1 1.7069E2
1.9249E1 1.7788E2
2.1167E1 1.5777E2
2.3091E1 1.6993E2
2.5013E1 1.8052E2

```

Figura 3.2 – Exemplo de um ficheiro de dados

No anexo A pode ser consultado um exemplo de ficheiro exportado do LigandTracer® Software 1.0. No ficheiro apenas interessa ao utilizador os valores após a linha de dados X e Y que corresponde ao tempo, em minutos, e às contagens por segundo (CPS), respectivamente.

Apenas existe uma licença do software, o que por vezes impossibilita outros utilizadores de visualizarem os resultados quando o equipamento está a ser usado.

Atualmente, o utilizador exporta os dados para o arquivo de texto, abre-o e seleciona a informação que pretende. Esta informação é colocada no Microsoft Excel, onde visualiza e efetua o tratamento de dados manualmente.

Pretendia-se que fosse criado um processamento automático para a visualização e tratamento dos dados usando o arquivo de dados exportado e que fosse possível estender esta funcionalidade a outros radiofármacos usados na Unidade de Biofísica.

3.1.2.2 Visualização dos dados exportados

Para visualizar os dados exportados, é necessário abrir o ficheiro exportado, copiar a informação pretendida (coluna X : tempo e coluna Y : CPS), abrir um ficheiro no Microsoft Excel, colar a informação e se pretender elaborar um gráfico terá que usar a ferramenta de desenho de gráficos do Microsoft Excel.

O utilizador quando seleciona o ficheiro de dados, visualiza imediatamente a informação contida no ficheiro no formato tabela e gráfico.

3.1.2.3 Calibração - traçador

Para o tratamento de dados é necessário obter através do equipamento LigandTracer® os arquivos de dados de calibração correspondentes aos vários radionuclídeos que se utilizam na Unidade de Biofísica. A necessidade destes dados prende-se com o facto de que o equipamento utilizado não fornece informação acerca da percentagem de captação. A informação é dada em CPS, valor que impede comparação entre radionuclídeos. Assim, para cada radionuclídeo é necessário estabelecer uma correspondência entre as contagens obtidas e a atividade administrada para que possa ser possível o cálculo da percentagem de captação. A Tabela 3.5 lista os vários radionuclídeos com o respectivo tempo de semi-desintegração (Sorenson & Phelps 1980)

Tabela 3.5 – Lista de radionuclídeos e tempos de semi-desintegração

Radionuclídeo	Tempo de semi-desintegração
Ástato 211	7,21 horas
Estanho 177m	13,61 dias
Flúor 18	109,8 minutos
Gálio 68	1,13 horas
Hólmio 166	1,117 dias
Iodo 123	13,2 horas
Iodo 124	4,18 dias
Iodo 131	8,02 dias
Lutécio 177	6,71 dias
Rénio 188	16,98 horas
Samário 153	72,96 horas
Tálio 201	3,04 dias
Tecnécio 99m	6,01 horas

Para cada ficheiro, que corresponde a uma calibração de um determinado radionuclídeo (a estrutura de dados do ficheiro é idêntica à da Figura 3.2), é necessário efetuar a média dos valores obtidos na coluna Y .

Para esta aplicação, cada radionuclídeo pode ter três tipos de calibração associado:

- 25 – que corresponde a radioatividade de 25 microcuries de radiofármaco;
- 50 – que corresponde a radioatividade de 50 microcuries de radiofármaco;
- 100 – que corresponde a radioatividade de 100 microcuries de radiofármaco.

O valor da média de cada tipo calibração de cada radionuclídeo deverá estar disponível para utilização no tratamento dos dados, tal como a opção de poder escolher um outro ficheiro de calibração exportado do LigandTracer® Software 1.0 ou introduzir o valor de calibração.

3.1.2.4 Correção de dados

Como já foi indicado anteriormente, o meio com o traçador pode ser adicionado à caixa de Petri antes de começar a rotação ou alguns segundos após ter iniciado a rotação. Caso seja após ter passado alguns segundos, é necessário eliminar linhas na coluna CPS (Y) e da coluna tempo (X), visto que estes valores não irão contar para o tratamento de dados. É ainda necessário, após a eliminação das linhas, corrigir os valores da coluna tempo, retirando a todos valores o valor da primeira linha, para que a coluna tempo inicie no valor zero. Esta correção é feita manualmente. Caso o utilizador indique, esta correção poderá ser feita automaticamente.

3.1.2.5 Lei da desintegração radioativa

Através da equação 3

$$N = N_o e^{-\left(\frac{0,693}{T_{1/2}}\right)t} \quad (3)$$

é possível obter a equação 4 que define inicialmente o número de núcleos radioativos, valor a ter em conta para o tratamento de dados.

$$N_o = \frac{N(t)}{e^{-\left(\frac{0,693}{T_{1/2}}\right)t}} \quad (4)$$

No LigandTracer® software 1.0, caso se especifique o radionuclídeo que está a ser usado, os resultados são apresentados tendo em conta a lei da desintegração radioativa. A aplicação

desta lei, caso o utilizador não especifique o radionuclídeo no *software*, é feita manualmente aplicando a fórmula anterior a cada linha da coluna CPS.

O utilizador deve indicar se esta lei é ou não aplicada e em caso afirmativo, seja efectuado os cálculos automaticamente.

3.1.2.6 Percentagem de captação

É possível calcular a percentagem de captação de um radiofármaco por parte das células para cada tempo utilizando a equação 5 (Abrantes et al. 2010):

$$\% \text{ captação } (t) = \frac{CPM(t)}{\text{Média Calibração}} \times 100 \quad (5)$$

Este cálculo é feito manualmente, tendo em conta as correções que podem ser feitas antes: correção dos dados e a aplicação da lei da desintegração radioativa.

O cálculo da percentagem de captação deve ser automático, visualizando os resultados graficamente e em tabela.

3.1.2.7 Ajuste de curvas

Em teoria de sistemas, funções podem ser utilizadas para estudar um sistema através da reação induzida (Lima 2005). Neste projeto, a função de entrada está relacionada com o radiofármaco usado e a resposta obtida com a percentagem de captação do radiofármaco pelas células.

O sistema, que se enquadra nestes estudos de captação, representa um modelo de um compartimento: é realizada a administração instantânea de uma atividade unitária do radiofármaco no meio (caixa de Petri) que contém células, permitindo, matematicamente, prever o comportamento ao longo do tempo da percentagem de captação do radiofármaco pelas células (Lima 2005).

Foi necessário definir uma função que se enquadre no perfil de captação das linhas celulares utilizadas, que se aproxime dos dados obtidos e que pode ser usada para o cálculo dos valores da percentagem de captação, recorrendo a um valor qualquer do tempo (t).

A Figura 3.3 representa graficamente o perfil de captação das linhas celulares utilizadas (Lima 2005).

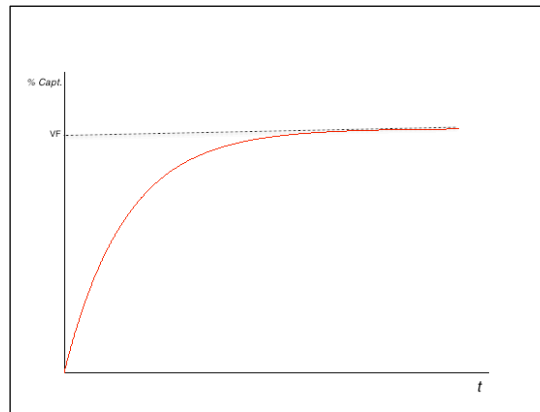


Figura 3.3 – Gráfico representativo do perfil de captação

Após obter a percentagem de captação, pretende-se efetuar o ajuste de dados a uma curva cuja equação é:

$$y(t) = a(1 - e^{-bt}) \quad (6)$$

em que a e b são constantes e y representa a percentagem de captação.

A aplicação deve permitir:

- Determinar os valores a e b da equação de ajuste;
- Visualizar graficamente a curva de ajuste em comparação com a percentagem de captação ao longo do tempo;
- Determinar as estatísticas do ajuste: Soma dos Quadrados dos Resíduos; R-Quadrado; R- Quadrado Ajustado; Erro Médio Quadrático;
- Determinar o valor final (VF) para qual tende a equação de ajuste;
- Determinar o tempo que demora a atingir cinquenta por cento do valor final;
- Quantificar percentagem de captação em função de um tempo introduzido pelo utilizador, recorrendo à função estabelecida.

3.1.3 Características da aplicação

3.1.3.1 Obtenção de dados - LigandTracer® Yellow

– Leitura do ficheiro de dados

A aplicação deve permitir importar o ficheiro de dados (apenas ficheiros com extensão .txt) criado através do LigandTracer®. A informação necessária para o tratamento de dados são os valores que aparecem depois da linha XY (Figura 3.2), devendo criar dois vetores com esses valores:

- Vetor tempo (minutos), que corresponde à coluna X do ficheiro de dados;
- Vetor CPS, que corresponde à coluna Y do ficheiro de dados.

3.1.3.2 Visualização dos dados exportados: tempo/contagens por segundo

– Visualizar dados tempo em função CPS

Após ter os dois vetores, tempo e CPS, deverão estes dois vetores ser visualizados em tabela e graficamente. O gráfico deverá apresentar no eixo dos XX o tempo (minutos) e no eixo dos YY as CPS (contagens por segundo).

3.1.3.3 Calibração – traçador

– Lista de radionuclídeos

Deverão ser listado na aplicação os radionuclídeos utilizados na Unidade de Biofísica. Cada radionuclídeo deverá ter o respetivo tempo de semi-desintegração associado. Deverá permitir inserir o tempo de semi-desintegração caso este não se encontre listado.

– Calibração

Ao seleccionar um radionuclídeo deve mostra informação se este tem ou não o valor de calibração associado. Se sim, o utilizador poderá escolher entre a opção 25, 50 ou 100. Cada opção tem um valor (médio) associado. Estes valores são fornecidos pela Unidade de Biofísica.

Caso não exista uma calibração associada, deverá permitir importar um ficheiro de dados (apenas ficheiros com extensão .txt) criado através do LigandTracer® Software 1.0. A informação necessária para calcular a média da calibração aparece depois da linha XY (Figura 3.2), sendo calculada a média de todos os valores da coluna Y , que correspondem às contagens por segundo.

Outra opção, caso não exista calibração associada, será permitir ao utilizador inserir o valor da média de calibração.

3.1.3.4 Correção de dados

– Correção do tempo

Se o utilizador indicar que se deve corrigir o tempo, a aplicação deverá:

- Encontrar no vetor CPS a posição x em que o valor atinge pela primeira vez número 100;
- Subtrair a todos os valores do vetor tempo, o valor que se encontra na posição $x-1$ do vetor tempo;
- O valor da posição $x-1$ fica a 0 no vetor tempo;
- Eliminar todos os valores do vetor tempo e CPS anteriores à posição $x-1$.

– Visualizar dados de correção do tempo

Caso o utilizador indique que pretende corrigir o tempo e após os dois vetores estarem corrigidos, estes deverão ser visualizados graficamente e em tabela. O gráfico deverá apresentar no eixo dos XX o tempo (minutos) e no eixo dos YY as contagens (CPS).

3.1.3.5 Lei da desintegração radioativa

– Aplicar a lei da desintegração radioativa

Caso o utilizador indique que deve ser aplicada esta lei, a aplicação deverá encontrar N_0 em cada instante (posições) t :

- A todas as posições do vetor CPS deverá aplicar a equação 4;
- Guardar cálculos num novo vetor.

3.1.3.6 Percentagem de captação

– O cálculo da percentagem de captação

Após indicação do utilizador, a aplicação deve calcular a percentagem de captação para cada instante segundo a equação 5.

O vetor CPS, poderá ser o vetor original, ou corrigido no tempo ou com a aplicação da lei da desintegração radioativa, depende sempre das escolhas efetuadas pelo utilizador.

Os resultados deverão ser guardados num novo vetor.

- Visualizar dados: tempo em função percentagem captação

Após ter o vetor da percentagem de captação, deverá ser visualizado em tabela e graficamente este em função do tempo. O gráfico deverá apresentar no eixo dos XX o tempo (minutos) e no eixo dos YY a percentagem de captação.

3.1.3.7 Ajuste de curvas

- Ajuste de dados obtidos a uma curva

A aplicação deve permitir efetuar o ajuste de dados a uma curva do tipo da equação 6, em que a e b são constantes, para que se consiga prever, matematicamente, o comportamento do sistema.

Deve ser mostrado ao utilizador a equação de ajuste, com os valores de a e b calculados automaticamente.

- Visualizar graficamente o tempo em função percentagem captação e a curva de ajuste

Deverá ser visualizado graficamente o tempo em função da percentagem captação e a curva de ajuste. O gráfico deverá apresentar no eixo dos XX o tempo (minutos) e no eixo dos YY a percentagem de captação e a curva de ajuste.

- Estatísticas do ajuste

A aplicação deverá calcular automaticamente e mostrar os seguintes parâmetros: Soma dos Quadrados dos Resíduos; R-Quadrado; R- Quadrado Ajustado; Erro Médio Quadrático.

- Valor final

A aplicação deve de calcular e mostrar o valor final para qual tende a equação de ajuste.

Este valor é calculado segundo o teorema do valor final (TVF) (Souza):

$$\begin{aligned} \text{Valor Final (VF)} &= \lim_{t \rightarrow \infty} y(t) \\ \text{VF} &= \lim_{t \rightarrow \infty} a(1 - e^{-bt}) = \lim_{t \rightarrow \infty} a - a \cdot e^{-bt} = a \end{aligned} \quad (7)$$

- Tempo a atingir cinquenta por cento do valor final

A aplicação deve calcular, automaticamente, o tempo que demora a atingir cinquenta por cento do valor final.

Sabendo que $VF = a$, cinquenta por cento do valor final será $\frac{a}{2}$, logo

$$\begin{aligned} \frac{a}{2} = a(1 - e^{-bt}) &\Leftrightarrow \frac{a}{2a} = 1 - e^{-bt} \Leftrightarrow 1 - \frac{1}{2} = e^{-bt} \Leftrightarrow \ln \frac{1}{2} = -bt \Leftrightarrow \\ &\Leftrightarrow t = \frac{\ln \frac{1}{2}}{-b} \end{aligned} \quad (8)$$

- Cálculo da percentagem de captação em função do tempo

A aplicação deve calcular, automaticamente, a percentagem de captação em função de um tempo introduzido pelo utilizador recorrendo à função estabelecida.

3.1.3.8 Outras opções

- Exportação de dados

A aplicação deve permitir exportar os dados calculados para um ficheiro do Microsoft Excel, permitindo a utilização dos dados em outros softwares, como por exemplo o IBM SPSS Statistics.

- Importação de dados

A aplicação deve permitir importar um ficheiro que foi exportado no ponto anterior, visualizar os dados e efetuar novos cálculos sobre estes.

- Comparar resultados

A aplicação deve permitir comparar resultados, graficamente, de várias captações efetuadas e obter a curva de ajuste de dados único a uma curva da equação 6, das várias captações. Para tal, os dados das várias captações deverão ser colocados num único vetor tempo e vetor percentagem de captação, sendo a curva de ajuste de dados único calculado através destes vetores.

3.2 Desenho

Os requisitos definidos em 3.1 foram analisados e transformados em esquemas de modo a facilitar a sua implementação. Nesta tarefa foi feita a descrição dos fluxogramas da aplicação e a interface foi modelada (Silva & Videira 2001).

Foram identificados os seguintes módulos:

- Tratamento de dados obtidos através do LigandTracer® Software 1.0, representado no fluxograma da Figura 3.4.
- Comparação de resultados, usando ficheiros no formato Microsoft Excel, representado no fluxograma da Figura 3.5.

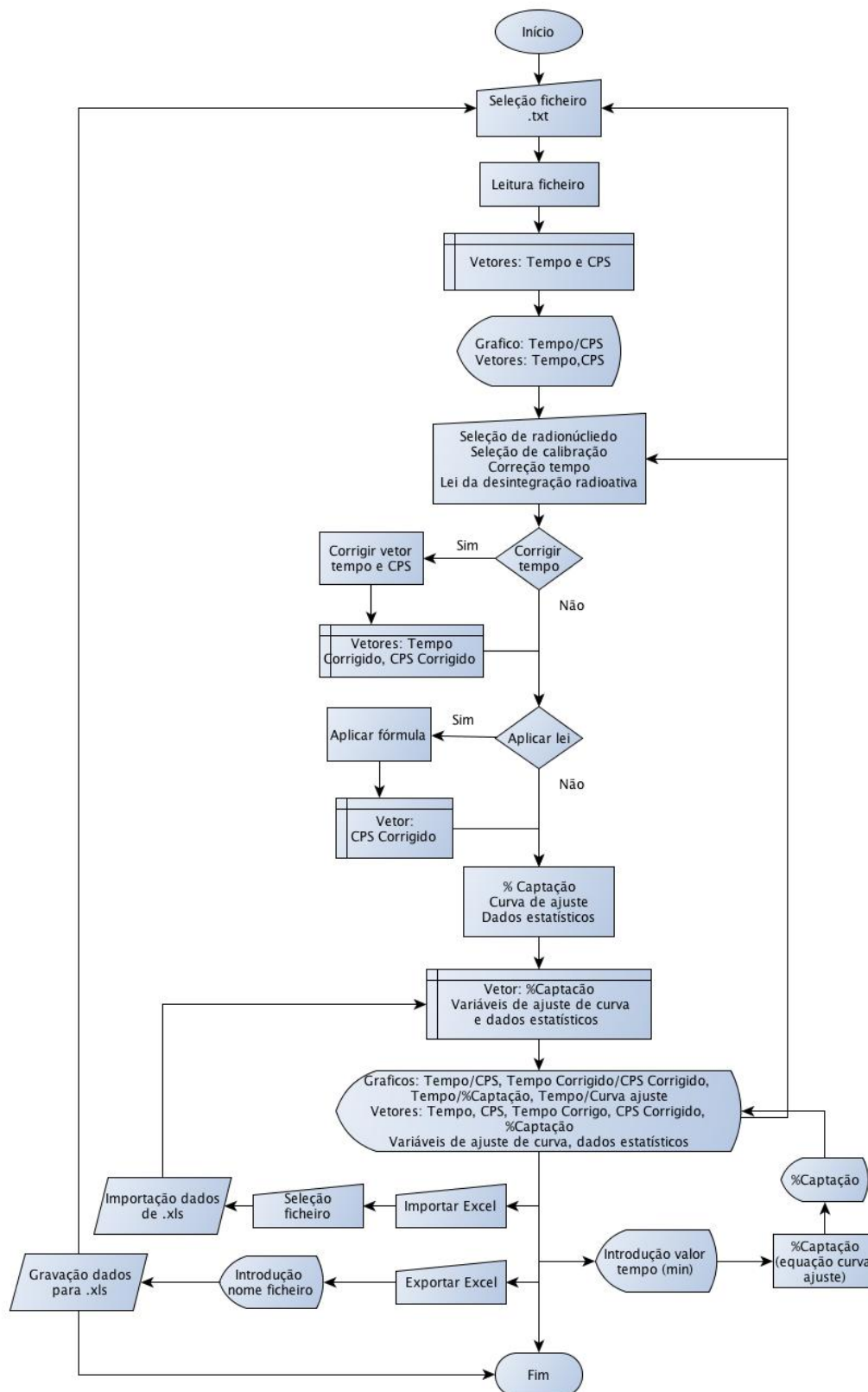


Figura 3.4 – Tratamento de dados

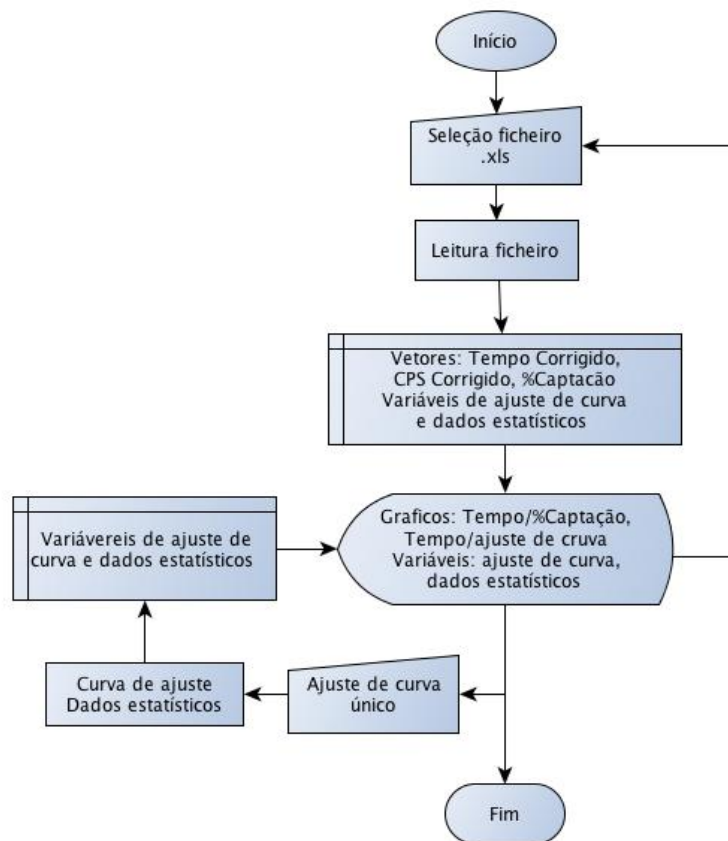


Figura 3.5 – Comparação de resultados

No anexo B encontram-se descritos os elementos gráficos do fluxograma geralmente utilizados (Wordpress 2011).

Os fluxogramas anteriormente identificados foram transformados em protótipos de interfaces, para cada fluxograma foi criado um protótipo de interface.

Para o fluxograma – Tratamento de dados a interface, principal, divide-se em 3 zonas (Figura 3.6):

1. Leitura de dados e indicação de parâmetros;
2. Visualização de resultados;
3. Avisos, mensagens.

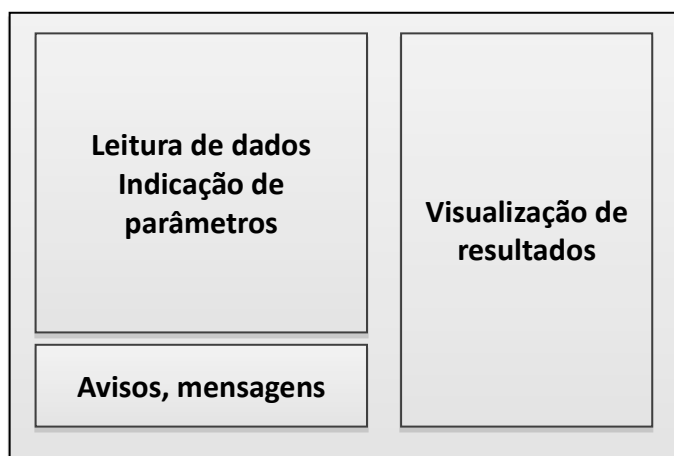


Figura 3.6 – Interface do módulo de Tratamento de dados

Para o fluxograma – Comparação de resultados a interface divide-se em 3 zonas (Figura 3.7):

1. Leitura de dados;
2. Visualização de resultados;
3. Avisos, mensagens.

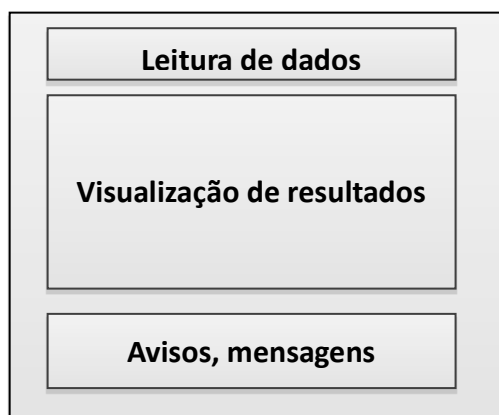


Figura 3.7 – Interface do módulo Comparação de resultado

3.3 Implementação

A tarefa de implementação inclui todas as atividades de desenvolvimento da aplicação, relacionadas com a concretização do modelo de desenho produzido na tarefa anterior. Os diversos componentes da aplicação foram codificados e testados de forma isolada, garantido assim a respectiva correção interna. Estes testes são designados por testes unitários uma vez que incidem sobre parcelas do sistema e realizados de forma independente (Silva & Videira 2001). Para a implementação da aplicação “Estudos de Captação” foi escolhido o software Matlab® R2012, visto que é uma linguagem para computação numérica, visualização e programação, permitindo analisar dados, desenvolver algoritmos e criar modelos e aplicações (Mathworks n.d.).

Os fluxogramas identificados no ponto 3.2 foram codificados e implementados todos os requisitos identificados, testados individualmente e efetuada a integração dos vários requisitos de modo a construir um sistema executável.

Para implementar o descrito em 3.1.3.7 Ajuste de curvas, utilizou-se Curve Fitting Toolbox do Matlab®. O Curve Fitting Toolbox fornece um aplicativo e funções para ajuste de curvas aos dados, permite gerar o código para se adequar à equação de ajuste definida e obter os parâmetros: Soma dos Quadrados dos Resíduos; R-Quadrado; R- Quadrado Ajustado; Erro Médio Quadrático.

3.4 Testes

Para além dos testes unitários, executados durante a tarefa implementação, esta tarefa destinou-se à execução dos restantes testes. O objetivo foi avaliar a adequada correção e funcionamento de todos os componentes da aplicação, confirmar que a implementação da aplicação está conforme a especificação produzida na tarefa de desenho que por sua vez resulta dos requisitos especificados na tarefa análise (Silva & Videira 2001).

Os testes foram executados em condições idênticas aquelas que a aplicação real irá possuir (Silva & Videira 2001). A aplicação foi disponibilizada para ser testada por um aluno de Mestrado da Unidade de Biofísica.

Foram fornecidos um conjunto de dados representativos e comparados a resposta com o resultado esperado: foram exportados para o Microsoft Excel os resultados de vários estudos,

através da aplicação “Estudos de Captação” e foram analisados manualmente os mesmos dados usados na aplicação. Os resultados foram comparados, verificando que estes eram iguais, garantindo a conformidade entre o sistema implementado e os requisitos definidos pelos utilizadores.

Para além destes, foram ainda realizados testes de aceitação, isto é, testes formais que os utilizadores realizam sobre o sistema. A aplicação foi aceite, definida como “pronta” e consequentemente disponibilizada na Unidade de Biofísica.

3.5 Instalação

A tarefa final é a respectiva instalação da aplicação, de forma a disponibilizar as funcionalidades concebidas aos seus utilizadores (Silva & Videira 2001).

Foi disponibilizado o manual de utilização aos utilizadores (Anexo B) assim como respetiva formação.

Capítulo 4 - IMPLEMENTAÇÃO DA APLICAÇÃO

A aplicação “Estudos de Captação” tem como requisitos:

- Resolução mínima de 1024x768;
- Sistemas operativos (32-bit e 64 bit) suportados: Microsoft Windows XP SP3, Microsoft Windows Vista, Microsoft Windows 7;
- Aplicações instaladas:
 - Microsoft Office Excel;
 - MATLAB Compiler Runtime.

É fornecido ao utilizador o pacote da aplicação que contem o ficheiro executável da aplicação e a instalação do MATLAB Compiler Runtime.

Para iniciar a aplicação, deve executar o ficheiro “EstudosCaptacao.exe” que se encontra no pacote da aplicação.

A aplicação Estudos de Captação divide-se em dois módulos:

- Tratamento de dados;
- Comparação de dados.

Ao iniciar-se a aplicação visualiza-se o módulo tratamento de dados.

4.1 Módulo Tratamento de Dados

A Figura 4.1 representa o módulo Tratamento de dados.

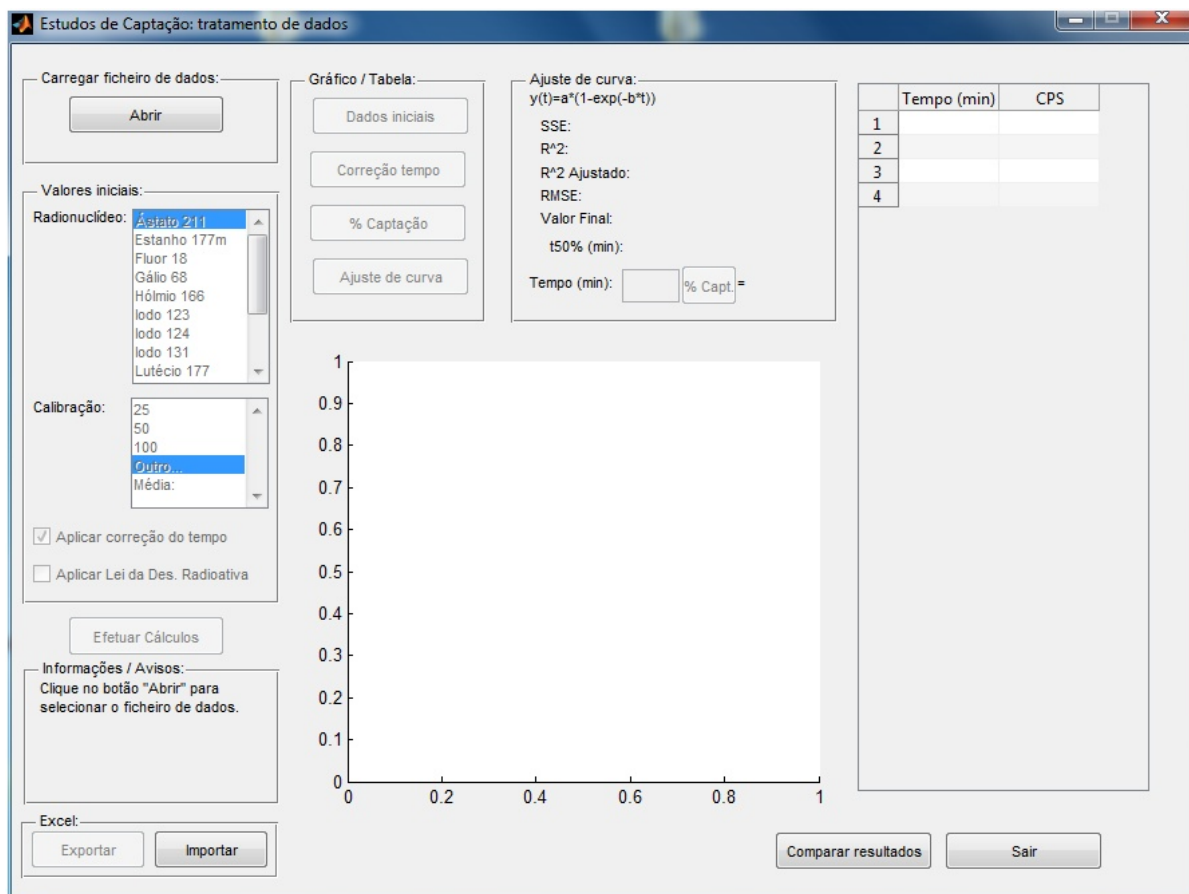


Figura 4.1 – Módulo Tratamentos de dados

Através deste módulo pode:

- Abrir um ficheiro exportado do LigandTracer® Software 1.0 e proceder à sua análise;
- Exportar resultados do estudo de captação para o formato Excel;
- Importar um ficheiro no formato Excel gerado por esta aplicação;
- Aceder ao módulo Estudos de Captação: Comparar Resultados;
- Fechar a aplicação clicando em *Sair*.

4.2 Módulo Comparar Resultados

No módulo Comparar resultados (Figura 4.2) pode-se comparar vários resultados obtidos no módulo de Tratamento de dados, que foram exportados para Excel, efetuar o ajuste de curva único dos valores das várias percentagens de captação visualizadas no momento e respetivos parâmetros de ajuste de curva.

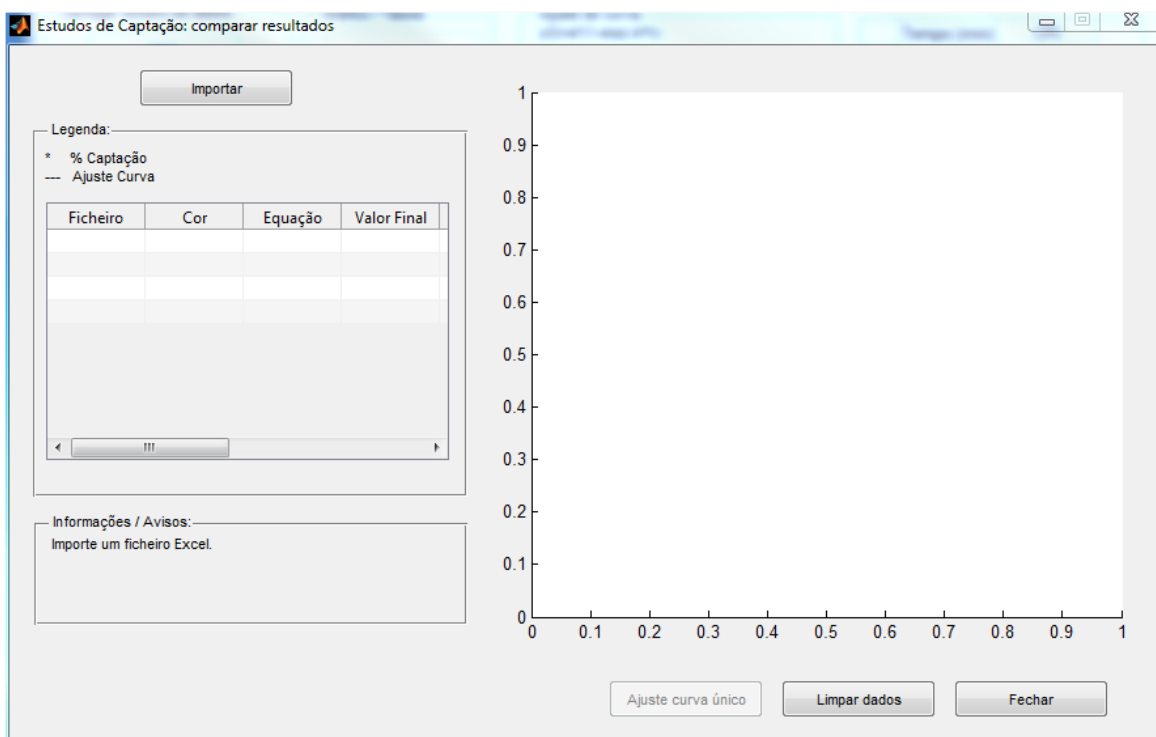


Figura 4.2 – Módulo Comparar resultados

4.3 Funcionalidades

4.3.1 Tratamento de Dados

4.3.1.1 Visualização dos dados de ficheiro exportado do LigandTracer® Software 1.0

Para visualizar os dados de um ficheiro exportado do LigandTracer® Software 1.0, o utilizador deve seleccionar o ficheiro de dados através da opção *Abrir* (Figura 4.1).

É visualizado graficamente e em forma de tabela os dados contidos no ficheiro, Figura 4.3: tempo (minutos) em função das contagens por segundo (CPS).

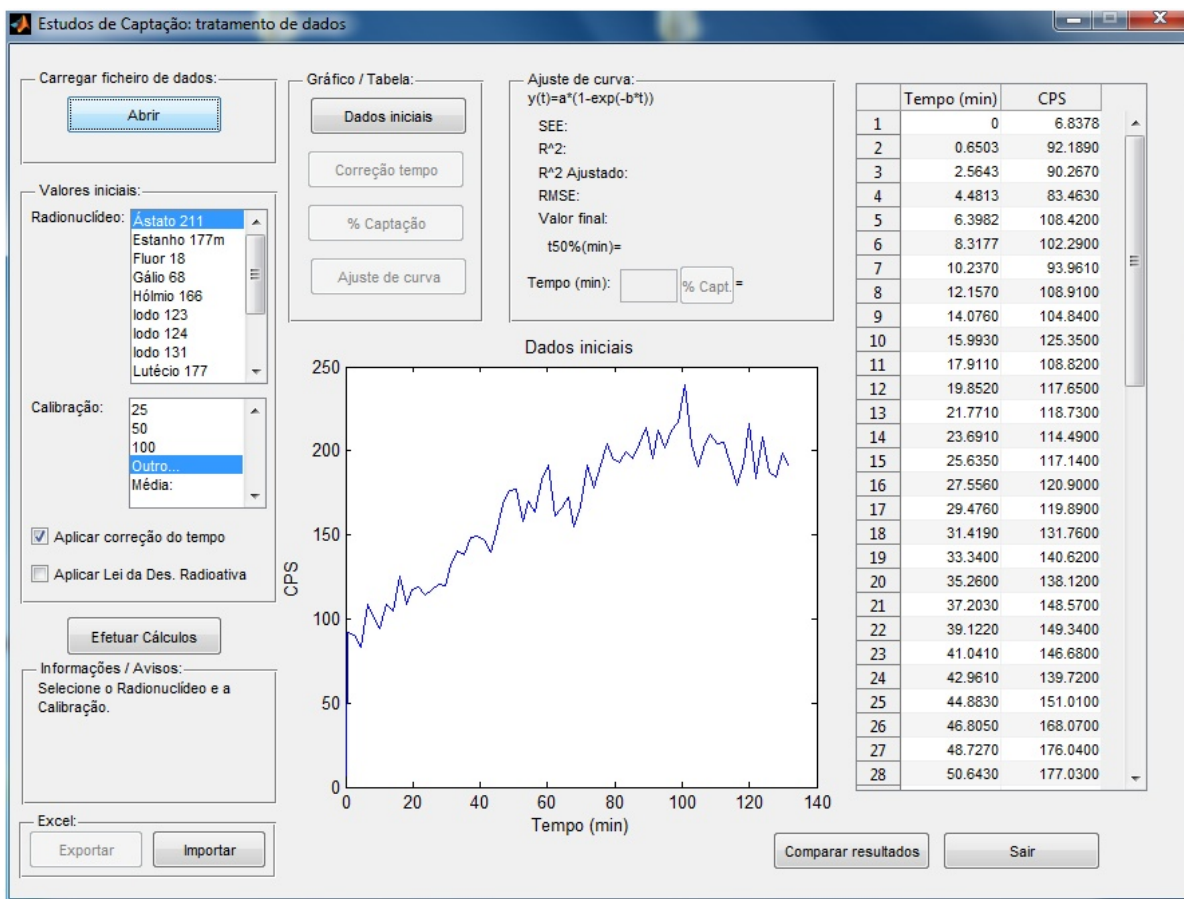


Figura 4.3 – Visualização de dados importados de ficheiro .txt

Nota: As opções *Correção de dados*, *Percentagem Captação*, *Ajuste de Curva*, *Exportar* e cálculo da percentagem de captação em função do tempo, só ficarão ativas após clicar em *Efetuar Cálculos* (Figura 4.3).

4.3.1.2 Cálculo da percentagem de captação e parâmetros de ajuste de curva

Após carregar os dados contidos no ficheiro, para cálculo da percentagem de captação e dos parâmetros de ajuste de curva, o utilizador deve:

- Selecionar o radionuclídeo correspondente ao ficheiro que está a visualizar (Figura 4.4). Caso o radionuclídeo utilizado não esteja listado, o utilizador pode selecionar o item *Outro...*, será apresentado uma janela onde se introduz o valor do tempo de semi-desintegração do radionuclídeo em minutos;

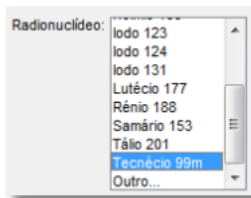


Figura 4.4 – Lista de radionuclídeos

- O respetivo item de calibração (Figura 4.5), cada radionuclídeo tem 3 tipos de calibração associados: 25, 50 ou 100 microcuries de radiofármaco. Caso o radionuclídeo selecionado no ponto anterior não tenha calibração definida é mostrado um aviso na zona de *Informações/Avisos* como mostra a Figura 4.6. O utilizador, ou seleciona o item *Outro...* para selecionar o ficheiro de calibração (formato *txt*) que foi previamente exportado através do LigandTracer® Software 1.0, ou seleciona o item *Média...* para introduzir manualmente o valor da média de calibração;

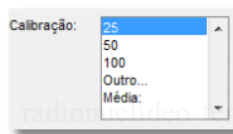


Figura 4.5 – Lista de calibração

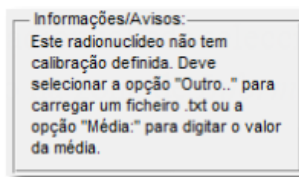


Figura 4.6 – Informações/Avisos

- Indicar se pretende aplicar a correção do tempo (Figura 4.7);

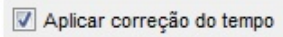


Figura 4.7 – Aplicar correção do tempo

- Indicar se pretende aplicar a lei da desintegração radioativa (Figura 4.8);

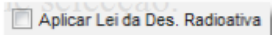


Figura 4.8 – Aplicar Lei da Desintegração Radioativa

- Por último clicar na opção Efetuar Cálculos.

É apresentado a seguinte informação (Figura 4.9):

- Visualização gráfica e em tabela do tempo (minutos) em função da percentagem de captação;
- Visualização dos parâmetros do ajuste de curva:
 - Equação de ajuste, em que y representa a percentagem de captação e t o tempo;
 - Soma dos quadrados dos resíduos (SEE);
 - R-quadrado (R^2);
 - R-quadrado (R^2) ajustado;
 - Erro médio quadrático (RMSE);
 - Valor final para que tente a equação de ajuste;
 - Tempo, em minutos, que demora a atingir cinquenta por cento do valor final ($t_{50\%}$).

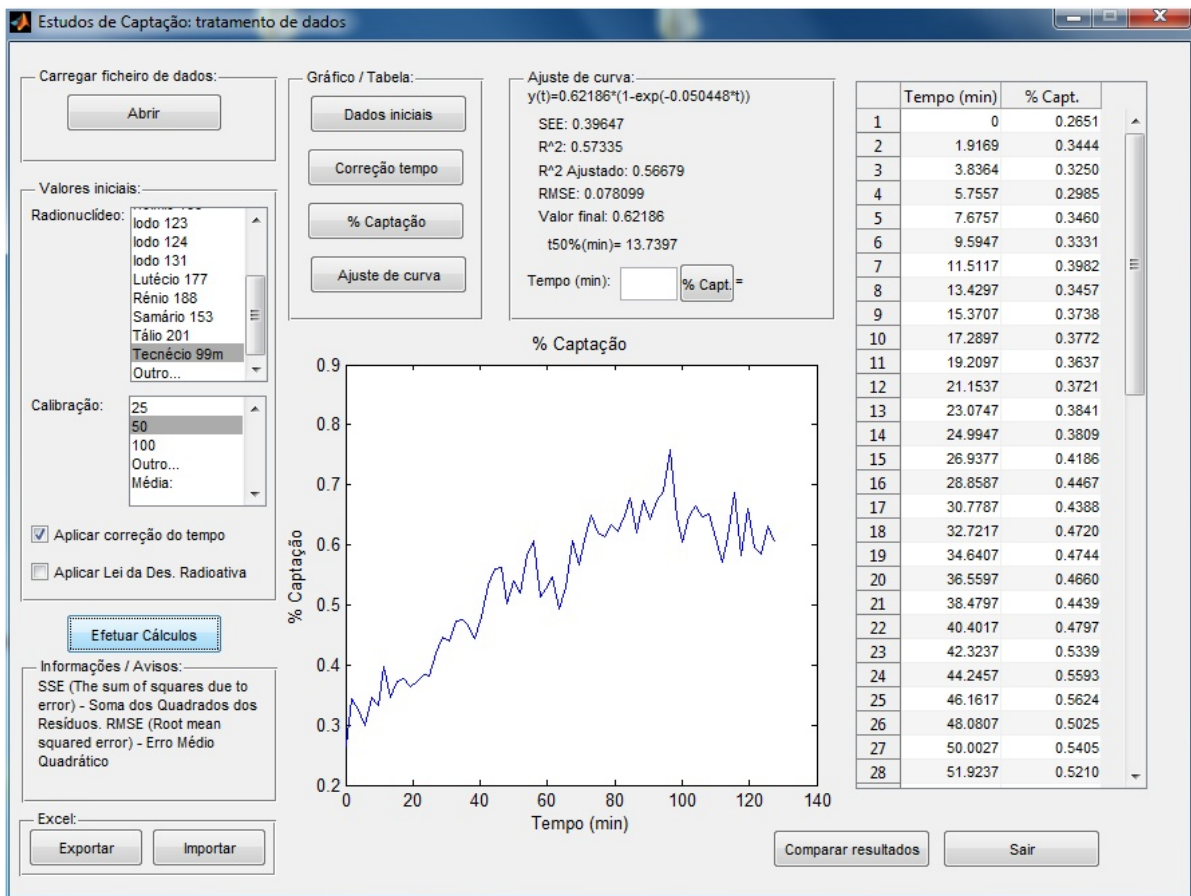


Figura 4.9 – Visualização de resultados

Ao clicar em *Ajuste de curva*, é visualizado o gráfico tempo em função da percentagem de captação e curva de ajuste (Figura 4.10).

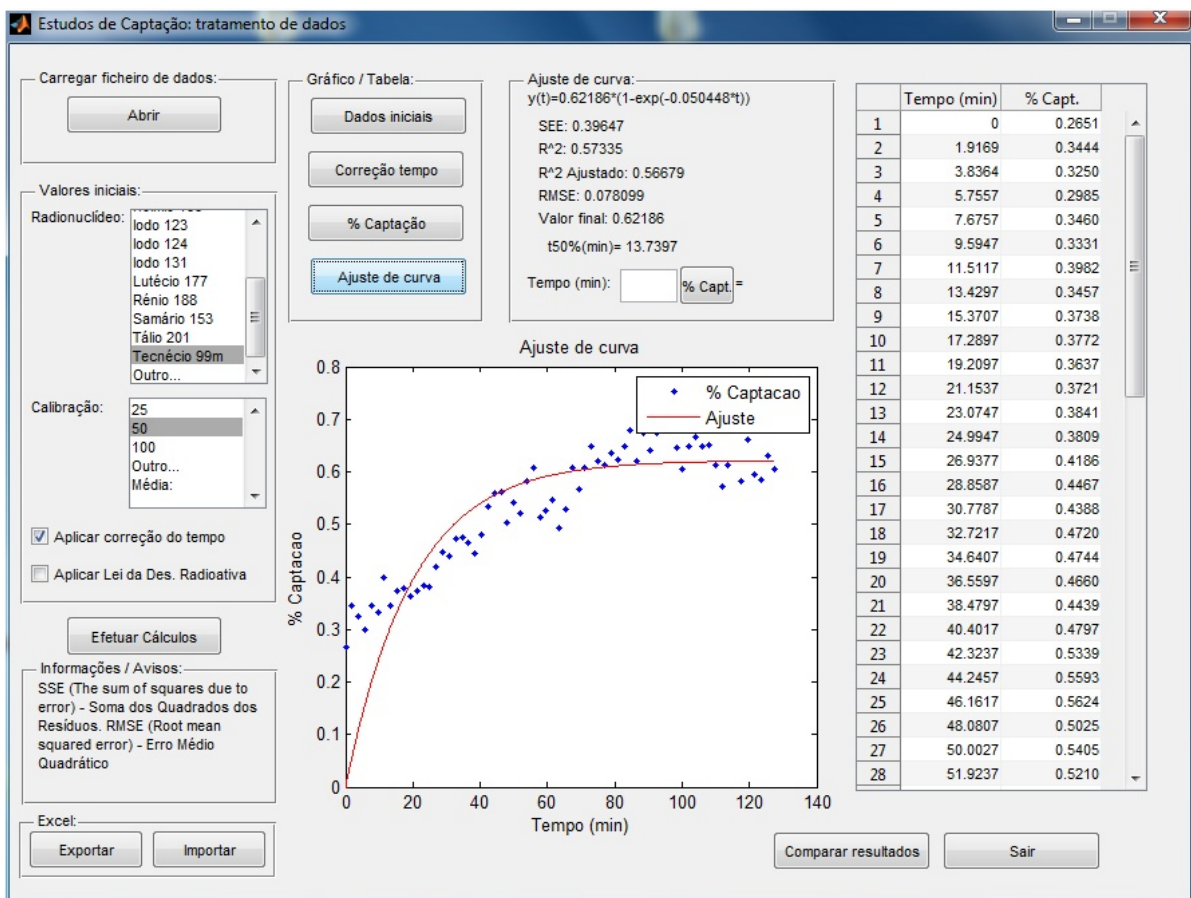


Figura 4.10 – Ajuste de curva

Caso ocorra algum erro durante os cálculos é mostrado o seguinte aviso na zona de *Informações /Avisos* (Figura 4.11):

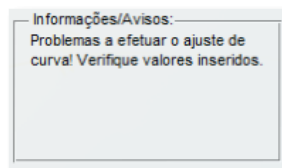


Figura 4.11 – Informações/Avisos

Para visualizar dados de outro ficheiro exportado do LigandTracer® Software 1.0, o utilizador deverá clicar em *Abrir*, selecionar o ficheiro pretendido.

4.3.1.3 Visualização de gráficos e tabelas

Os gráficos a seguir indicados e as respetivas tabela de valores, podem ser visualizados selecionando as respetivas opções (Figura 4.12):

- *Dados iniciais*, visualização dos dados importados do ficheiro: tempo (minutos) em função das contagens por segundo.
- *Correção do tempo*, visualização dos dados importados do ficheiro com correção no tempo: tempo corrigido (minutos) em função das contagens por segundo. (Esta opção apenas fica disponível após clicar em *Efetuar cálculos* e se indicar que pretende aplicar a correção do tempo).
- *Percentagem de Captação*, visualização do tempo (minutos) em função da percentagem de captação. Esta opção apenas fica ativa após clicar em *Efetuar cálculos*.
- *Ajuste de Curva*, visualização do tempo (minutos) em função da percentagem de captação e a curva de ajuste. Esta opção apenas fica ativa após clicar em *Efetuar cálculos*.

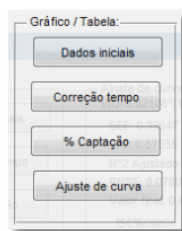


Figura 4.12 – Gráfico/Tabela

4.3.1.4 Visualização do gráfico numa janela maior

Para visualizar o gráfico numa janela maior, o utilizador deve clicar no gráfico com o botão do lado direito e de seguida clicar em *Abrir gráfico numa nova janela*. É apresentada a seguinte janela (Figura 4.13) contendo o respectivo gráfico.

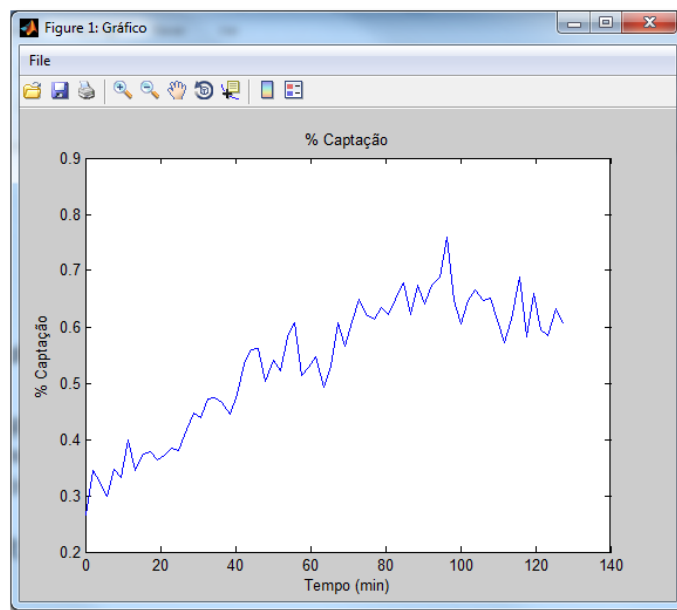


Figura 4.13 – Visualização de gráfico

O utilizador pode gravar o gráfico no formato de imagem, clicando em *File*, em *Save as..* e indicar o nome do ficheiro a atribuir à imagem.

4.3.1.5 Cálculo da percentagem de captação em função tem um tempo introduzido.

Após visualizar os parâmetros do ajuste de curva, é possível calcular a percentagem de captação em função de um tempo, usando a equação de ajuste apresentada. O utilizador deve introduzir o valor do tempo, em minutos, na caixa tempo e clicar em *% Capt.* Será apresentado o valor da percentagem de captação em função do tempo introduzido (Figura 4.14).

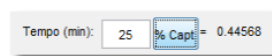


Figura 4.14 – Cálculo da percentagem de captação em função do tempo

4.3.1.6 Exportar resultados

Através da opção *Exportar* é possível exportar dados gerados na aplicação para um ficheiro Excel, para os dados serem usados no módulo Comparar resultados ou noutro software.

O ficheiro Excel apresenta a seguinte informação (Figura 4.15):

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
1	Dados iniciais		Dados iniciais	Tempo Corrigido	Tecnécio 99m	13	Calibração		% Captação		Ajuste de Curva:		
2	Tempo (min)	CPS	Tempo (min)	CPS	Tempo de vida (min):	360,42	Média	31477,79957	Tempo (min)	% Captação	y(t)=0.62186*(1-exp(-0.050448*t))		
3	0	6,8378	0	83,463					0	0,265148775	SEE: 0.39647		
4	0,65026	92,189	1,9169	108,42					1,9169	0,344433224	R^2: 0.57335		
5	2,5643	90,267	3,8364	102,29					3,8364	0,324959182	R^2 Ajustado: 0.56679		
6	4,4813	83,463	5,7557	93,961					5,7557	0,298499264	RMSE: 0.078099		
7	6,3982	108,42	7,6757	108,91					7,6757	0,345989877	Valor final: 0.62186		
8	8,3177	102,29	9,5947	104,84					9,5947	0,333060129	t50%(min)= 13.7397		
9	10,237	93,961	11,5117	125,35					11,5117	0,398217162			
10	12,157	108,91	13,4297	108,82					13,4297	0,345703961			
11	14,076	104,84	15,3707	117,65					15,3707	0,373755477			
12	15,993	125,35	17,2897	118,73					17,2897	0,377186467			
13	17,911	108,82	19,2097	114,49					19,2097	0,363716656			
14	19,852	117,65	21,1537	117,14					21,1537	0,372135288			
15	21,771	118,73	23,0747	120,9					23,0747	0,384080214			
16	23,691	114,49	24,9947	119,89					24,9947	0,380871604			
17	25,635	117,14	26,9377	131,76					26,9377	0,41858072			

Figura 4.15 – Resultados exportados para ficheiro Excel

Nota: Esta opção só fica ativa após ter efetuado o passo descrito no ponto 4.3.1.2 .

4.3.1.7 Importar resultados

A qualquer momento pode importar para a aplicação um ficheiro que tenha sido gerado e exportado para Excel como referido no ponto 4.3.1.6 . Para isso, deverá clicar em *Importar* e indicar qual o ficheiro Excel que pretende importar. Será mostrado toda a informação contida no ficheiro.

4.3.1.8 Sair de Estudos de Captação

Para fechar o módulo Tratamento de dados o utilizador deverá clicar em *Sair*.

4.3.2 Comparar Resultados

Para comparar vários resultados de várias captações é necessário utilizar os ficheiros Excel gerados pela opção *Exportar* no módulo Tratamento de dados.

Para tal, estando no módulo Tratamento de Dados, o utilizador deverá clicar em *Comparar Resultados*, para visualizar o módulo Comparar resultados (Figura 4.16).

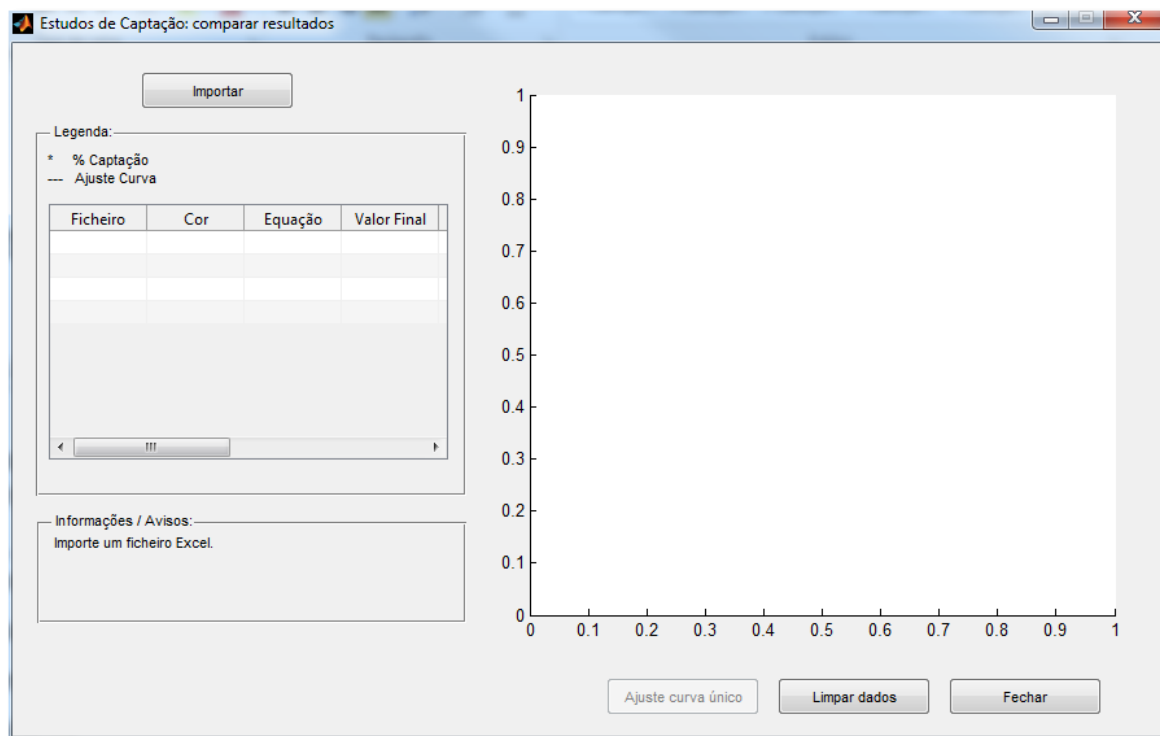


Figura 4.16 – Módulo Comparar resultados

Através da opção *Importar*, o utilizador seleciona, um a um, o ficheiro no formato Excel, indicado a cor que pretende atribuir à linha do gráfico para os dados indicados (Figura 4.17).

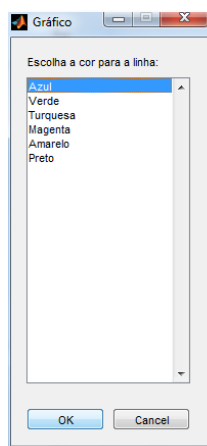


Figura 4.17 – Seleção de cor de linha do gráfico

Será mostrado os dados de ajuste de curva e o respetivo gráfico na tabela (Figura 4.18). Caso ocorra algum problema na importação de dados, será apresentando mensagem na zona de *Informações / Avisos*.

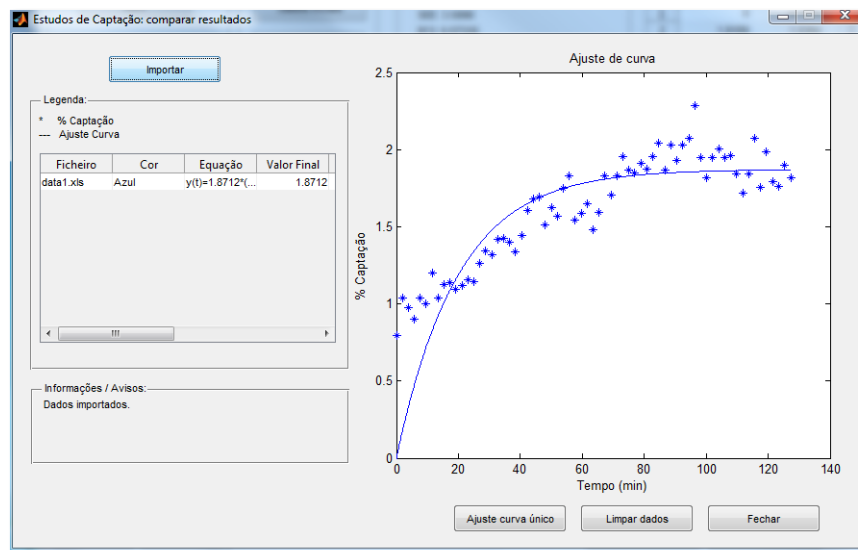


Figura 4.18 – Visualização de dados importados

4.3.2.1 Ajuste de curva único

Para efetuar o ajuste de curva único para todos os estudos de captação que está a visualizar no módulo Comparar resultados, o utilizador deverá clicar na opção *Ajuste curva único*.

É adicionado uma nova linha na tabela com os parâmetros do ajuste de curva único e apresentado no gráfico, a cor vermelha, a respetiva curva que representa o ajuste a todos os pontos representados no gráfico (Figura 4.19).

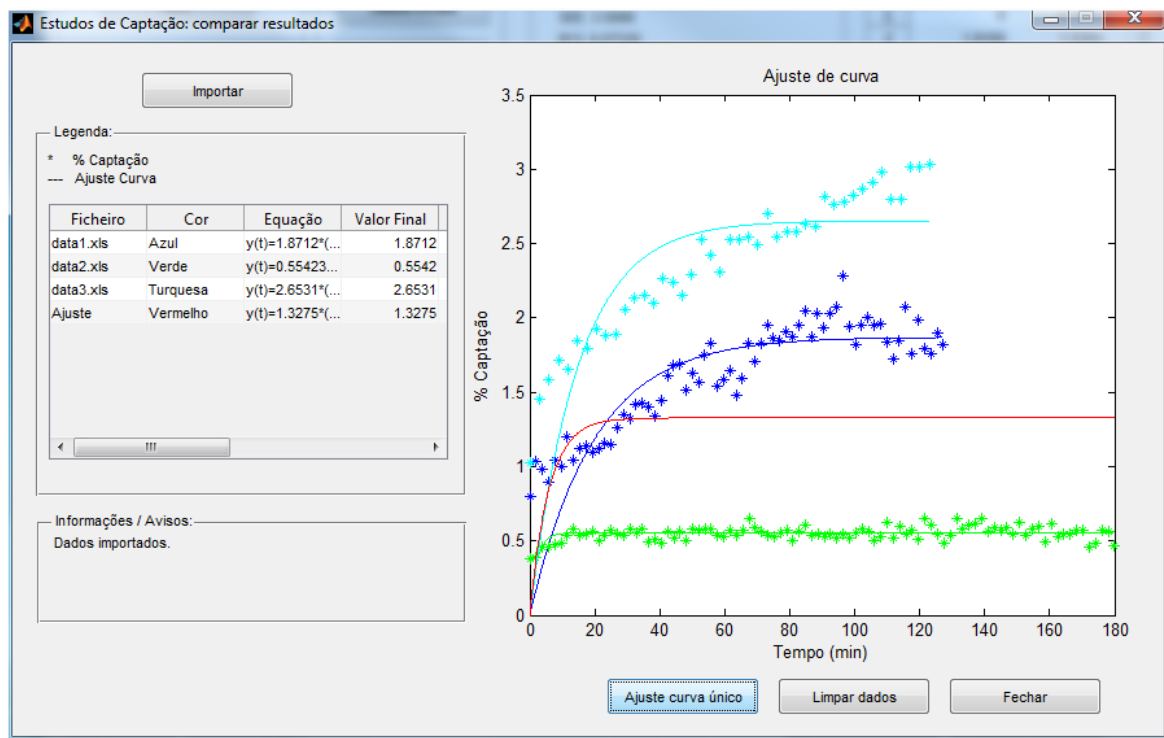


Figura 4.19 – Visualização de ajuste de curva único

4.3.2.2 Visualização do gráfico numa janela maior

Para visualizar o gráfico numa janela maior, o utilizador deve clicar no gráfico com o botão do lado direito e de seguida clicar em *Abrir gráfico numa nova janela*. É apresentada a seguinte janela (Figura 4.20) contendo o respetivo gráfico.

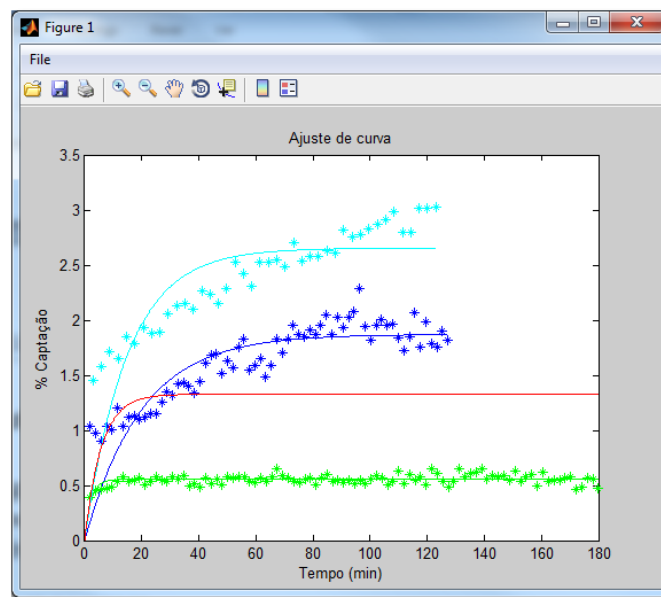


Figura 4.20 – Visualização de gráfico

O utilizador pode gravar o gráfico no formato de imagem, clicando em *File*, em *Save as..* e indicar o nome do ficheiro a atribuir à imagem.

4.3.2.3 Efetuar nova comparação

Para efetuar uma nova comparação, o utilizador deverá clicar em *Limpar dados* para eliminar linhas da tabela e eliminar o gráfico atual.

4.3.2.4 Fechar Módulo Comparar Resultados

Para fechar o módulo Comparar resultados o utilizador deverá clicar em *Fechar*.

4.3.3 Sair de Estudos de Captação

Para sair da aplicação Estudos de Captação o utilizador deverá clicar em *Sair* no módulo Tratamento de dados.

Poderá consultar as funcionalidades da aplicação no manual de utilização. (Anexo C)

Capítulo 5 - CONCLUSÕES

A aplicação “Estudos de Captação”, que efetua o tratamento de dados obtidos através do equipamento LigandTracer® Yellow, cumpre o objetivos propostos pela Unidade de Biofísica. Todos os requisitos definidos foram implementados e validados.

Durante todo o processo de desenvolvimento, foram realizadas reuniões e recolhida informação para que a aplicação correspondesse às necessidades da Unidade de Biofísica.

A aplicação obteve uma aceitação positiva por parte dos utilizadores pois esta é de fácil utilização e consegue-se obter resultados em menos de um minuto, o que não acontecia anteriormente, em que o tratamento requeria muito mais tempo.

Apresenta apenas dois módulos onde estão refletidos todas as necessidades e conseguem-se obter resultados após três passos: 1 – selecionar ficheiro; 2 – definir os parâmetros iniciais (apenas no módulo tratamento de dados); 3 – efetuar os cálculos.

A “Estudos de Captação” apresenta as seguintes vantagens:

- Aumenta o número de *estudos* efectuados por dia;
- Fiabilidade nos resultados obtidos, evitando erros que podem ocorrer com o tratamento manual dos dados por parte do utilizador;
- Qualquer utilizador, que não sabia o processo que envolve no tratamento de dados, pode utilizar a aplicação;
- Inclui vários radionuclídeos, podendo ser usada para outros estudos que não a captação de ^{18}F -FDG;
- Prever o comportamento da percentagem de captação ao longo do tempo através da função estabelecida;
- Possibilidade de comparar graficamente a percentagem de captação de um radiofármaco em várias linhas celulares.

“Estudos de Captação” já está a ser utilizada por alunos e investigadores da Unidade de Biofísica para a análise de várias linhas celulares e radiofármacos que estão a ser alvo de estudo.

A realização deste projeto, foi uma oportunidade para aplicar alguns conhecimentos adquiridos nas unidades curriculares do MSTIS e da licenciatura em Engenharia Informática e de Sistemas no ISEC.

As dificuldades encontradas no desenvolvimento da aplicação passaram:

- Pela compreensão de todos os processos envolvidos no cálculo da percentagem de captação utilizando o ficheiro exportado do LigandTracer® Software 1.0.
- Pela definição da curva de ajuste que melhor se adapta ao perfil de captação.

Como sugestão de desenvolvimento futuro:

- Ajustar a aplicação para que esta permita efetuar estudos de influxo e/ou efluxo e o ajuste de dados a outros tipos de curvas.
- Criação de uma base de dados para armazenamento de dados, gráficos e parâmetros gerados pela aplicação, permitindo visualizar, analisar e comparar informação sobre vários estudos de captação de diferentes radiofármacos em várias linhas celulares.

Capítulo 6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AB, R.I., 2013a. LigandTracer® for interaction analysis. *Ridgeview Instruments AB*, 1(1), p.1. Available at: http://www.ligandtracer.com/docs/TechNote_LigandTracer.pdf [Accessed June 4, 2013].
- AB, R.I., 2014. LigandTracer Control. Available at: <http://www.ligandtracer.com/software/ligandtracer/> [Accessed June 4, 2013].
- AB, R.I., 2008. LigandTracer Software® 1.0 - Software and Application Handbook.
- AB, R.I., 2012. LigandTracer® Technology. Available at: <http://www.ridgeviewinstruments.com/3.htm> [Accessed April 26, 2012].
- AB, R.I., 2013b. LigandTracer® Yellow. Available at: <http://www.ligandtracer.com/instruments/yellow/> [Accessed June 4, 2013].
- Abrantes, A.M. et al., 2010. Hypoxia-induced redox alterations and their correlation with ^{99m}Tc-MIBI and ^{99m}Tc-HL-91 uptake in colon cancer cells. *Nuclear medicine and biology*, 37(2), pp.125–32. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20152711> [Accessed August 20, 2013].
- American Cancer Society, 2013. Endometrial (Uterine) Cancer. Available at: <http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/003097-pdf.pdf> [Accessed July 26, 2013].
- Cancer, I.A. for R. on, 2010. GLOBOCAN 2008 Estimated cancer Incidence, Mortality, Prevalence and Disability-adjusted life years (DALYs) Worldwide in 2008. Available at: <http://globocan.iarc.fr/> [Accessed September 8, 2013].
- Cardoso, C.A.H., 2006. *Tomografia por Emissão de Positrões*, Lisboa: Universidade Católica Editora.
- Lima, J.J.P. de, 2005. *Biofísica Médica*, Coimbra: Imprensa da Universidade de Coimbra.
- Macheda, M.L., Rogers, S. & Best, J.D., 2005. Molecular and cellular regulation of glucose transporter (GLUT) proteins in cancer. *Journal of cellular physiology*, 202(3), pp.654–62. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15389572> [Accessed September 3, 2013].
- Maia, N. et al., 2007. A PET na Urologia – Indicações , estado actual , futuro. , pp.11–21.
- Marie, S.K.N. & Shinjo, S.M.O., 2011. Metabolism and brain cancer. *Clinics (São Paulo, Brazil)*, 66 Suppl 1, pp.33–43. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23320861>.
- Mathworks, Matlab - The Language of Technical Computing. Available at: <http://www.mathworks.com/products/matlab/> [Accessed April 27, 2013].
- Nature Reviews Cancer, Box 1 | Positron-emission tomography. Available at: http://www.nature.com/nrc/journal/v4/n6/box/nrc1368_BX1.html [Accessed March 3, 2014].
- Saúde, D.G. da, 2012. Programa Nacional para as Doenças Oncológicas - Orientações Programáticas. , pp.1–5.
-

Saude, I. de C.N.A. à, 2011. Tomografia por Emissão de Positrões (PET). , pp.1–2. Available at: http://www.uc.pt/icnas/pet_informacao_generica.pdf [Accessed September 16, 2013].

Silva, A. & Videira, C., 2001. *UML - Metodologias e Ferramentas*, V. N. Famalicão: Centro Atlântico.

Sorenson, J.A. & Phelps, M.E., 1980. *Physics in Nuclear Medicine*, Grune & Stratton, Inc.

Capítulo 7 - ANEXOS







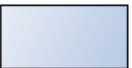


Anexo A – Ficheiro exportado do LigandTracer® Software 1.0

```

Export filename C:\Documents and Settings\LigandTracer User\Desktop\Curvas\20121218-cali 25
micra 99mTc export.txt
Export time      2013-01-25 13:43
Result filename New - 20121218-cali 25 micra 99mTc
Plot name       20121218-cali 25 micra 99mTc
Plot xlabel     Time (min)
Plot ylabel     Signal (CPS) halflife corrected
Property Analysis temp 36.3 (36.1 - 36.7)
Property Analysis date 2012-12-18 18:24
Property Filename C:\Documents and Settings\LigandTracer User\My
Documents\2CPP\Tecnecio-calibracao\calibracao 25 micra\20121218-cali 25 micra 99mTc.ltr
Property Instrument id RCY-020013
Property Instrument type LigandTracer
Property Software LigandTracer
Property Solid support Petri dish
Curve 0
Curve name Max-Min
Curve protected FALSE
Curve type Curve
Curve ligand
Curve concentration (M) 0.0000E0
Curve target
Curve description
X Y
0.0000E0 1.2696E1
1.0841E0 1.1207E4
2.9987E0 1.1336E4
4.9156E0 1.1318E4
6.8326E0 1.1346E4
8.7518E0 1.1370E4
1.0670E1 1.1359E4
1.2591E1 1.1420E4
1.4510E1 1.1392E4
1.6428E1 1.1431E4
1.8345E1 1.1372E4
2.0286E1 1.1397E4
2.2204E1 1.1370E4
2.4126E1 1.1359E4
2.6070E1 1.1378E4
2.7988E1 1.1402E4
2.9908E1 1.1355E4

```

Anexo B – Elementos gráficos utilizados no fluxograma

Símbolo	Descrição
	Início – Utilizado para representar o início de um processo.
	Fim – Utilizado para representar o fim de um processo.
	Decisão – Indica um ponto no processo que apresenta ações condicionantes, onde há caminhos alternativos, se acontecerem determinado evento (sim ou não).
	Introdução manual – Informações recebidas ou fornecidas pelo utilizador.
	Armazenamento interno – Armazena informação internamente.
	Monitor – Exibição de informações.
	Processamento – Representa qualquer ação para criar, transformar, conferir ou analisar uma operação ou procedimento.
	Entrada e saída de dados – Símbolo em função de um dispositivo qualquer de entrada e saída de dados, como fornecedor de informações para processamento, gravação e outros.
	Seta de fluxo de dados – Permite indicar o sentido do fluxo de dados.

Anexo C – Manual de utilização

Estudos de Captação

Manual de Utilização

Índice

1. Introdução	4
2. Aplicação Estudos de Captação	5
2.1 Instalação	5
2.2 Desinstalação	8
3. Aplicação Estudos de Captação	9
3.1 Módulo Tratamento de Dados	9
3.2 Módulo Comparar Resultados	10
4. Funcionalidades	11
4.1 Tratamento de Dados	11
4.1.1 Visualização dos dados de ficheiro exportado do LigandTracer® Software 1.0..	11
4.1.2 Cálculo da percentagem de captação e dados de ajuste de curva	12
4.1.3 Visualização do gráfico numa janela maior	18
4.1.4 Exportar resultados	20
4.1.5 Importar resultados	21
4.1.6 Sair de Estudos de Captação	22
4.2 Comparar Resultados	22
4.2.1 Ajuste de curva único.....	25
4.2.2 Visualização do gráfico numa janela maior	25
4.2.3 Efectuar nova comparação	27
4.2.4 Fechar Módulo Comparar Resultados.....	27
4.3 Sair de Estudos de Captação	27

Índice de figuras

Figura 2.1 – Preparação de instalação MCR	5
Figura 2.2 – Instalação de MCR.....	5
Figura 2.3 – Contrato de licença.....	6
Figura 2.4 – Seleção de pasta.	6
Figura 2.5 – Seleção de pasta – sim/não.....	6
Figura 2.6 – Confirmação de instalação.....	7
Figura 2.7 – Progresso de instalação	8
Figura 2.8 – Finalização da instalação.....	8
Figura 3.1 – Módulo Tratamentos de dados	9
Figura 3.2 – Módulo Comparar resultados.....	10
Figura 4.1 – Seleção de ficheiro de dados	11
Figura 4.2 – Visualização de dados importados de ficheiro .txt.....	12
Figura 4.3 – Lista de radionuclídeos	12
Figura 4.4 – Introdução do tempo de semi-desintegração.....	13
Figura 4.5 – Lista de calibração.....	13
Figura 4.6 – Informações/Avisos.....	13
Figura 4.7 – Seleção de ficheiro de dados de calibração.....	14
Figura 4.8 – Introdução de valor média de calibração	14
Figura 4.9 – Aplicar correção do tempo	14
Figura 4.10 – Aplicar Lei da Desintegração Radioativa.	15
Figura 4.11 – Tratamento de Dados, visualização de resultados.....	16
Figura 4.12 – Tratamento de Dados, ajuste de curva.	17
Figura 4.13 – Informações/Avisos.....	17
Figura 4.14 – Gráfico/Tabela.....	18
Figura 4.15 – Visualização de gráfico	19
Figura 4.16 – Guardar gráfico.	19
Figura 4.17 – Cálculo da percentagem de captação em função do tempo.....	20
Figura 4.18 – Seleção de pasta para gravar ficheiro.....	20
Figura 4.19 – Inserção nome do ficheiro.....	21
Figura 4.20 – Mensagem: Dados Gravados!	21
Figura 4.21 – Resultados exportados para ficheiro Excel	21
Figura 4.22 – Seleção de ficheiro no formato Excel	22
Figura 4.23 – Módulo Comparar resultados.....	23
Figura 4.24 – Seleção de ficheiro no formato Excel	23
Figura 4.25 – Seleção de cor de linha do gráfico	24
Figura 4.26 – Visualização de dados importados	24
Figura 4.27 – Visualização de ajuste de curva único	25
Figura 4.28 – Visualização de gráfico	26
Figura 4.29 – Seleção de pasta para gravar ficheiro.....	26

1. Introdução

A aplicação Estudos de Captação consiste numa aplicação desenvolvida com base em Matlab® que visa possibilitar a extração de informação relevante para a caracterização da cinética de entrada de um radiofármaco na célula, usando como base dos cálculos os dados obtidos através da aplicação LigandTracer® Software 1.0.

A aplicação LigandTracer® Software 1.0 é uma aplicação proprietária que controla o equipamento LigandTracer® Yellow, usado principalmente para medições de contagens resultantes da captação de diferentes radiofármacos pelas diferentes linhas celulares.

O presente documento tem por objectivo apoiar o utilizador na instalação e utilização da aplicação *Estudos de Captação*.

2. Aplicação Estudos de Captação

A aplicação Estudos de Captação requer uma resolução mínima de 1024x768 e é suportada nos seguintes sistemas operativos (32-bit e 64 bit):

- Microsoft Windows XP SP3;
- Microsoft Windows Vista;
- Microsoft Windows 7.

Requer ter instalado o Microsoft Office Excel.

2.1 Instalação

Deverá ter instalado o MATLAB Compiler Runtime (MCR). Se sim, execute o ficheiro “EstudosCaptacao.exe” que se encontra no pacote da aplicação.

Caso não tenha instalado o MCR, execute o ficheiro MCRInstaller que se encontra na pasta MCR do pacote da aplicação (necessita de privilégios de administrador para executar este ficheiro) e siga os seguintes passos:

1. É apresentada a janela seguinte (Figura 2.1), de preparação dos ficheiros de instalação do MCR.

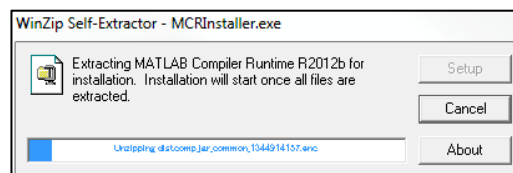


Figura 2.1 – Preparação de instalação MCR

2. Clique em *Next* (Figura 2.2).

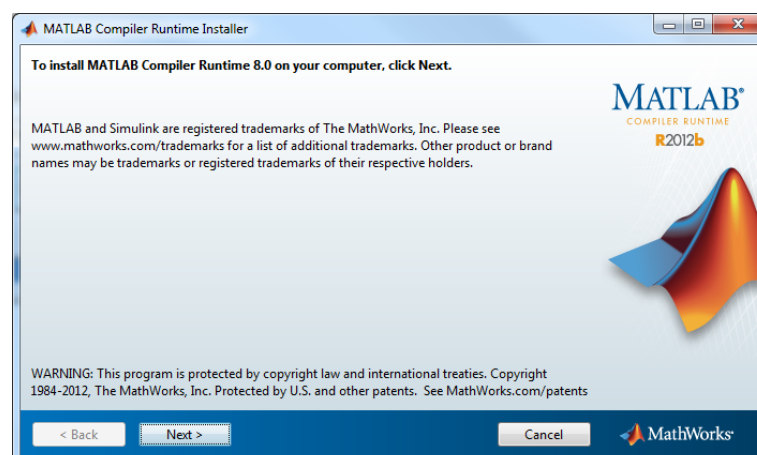


Figura 2.2 – Instalação de MCR.

3. Após ler atentamente o contrato de licença, selecione a opção *Yes* e clique em *Next* (Figura 2.3).

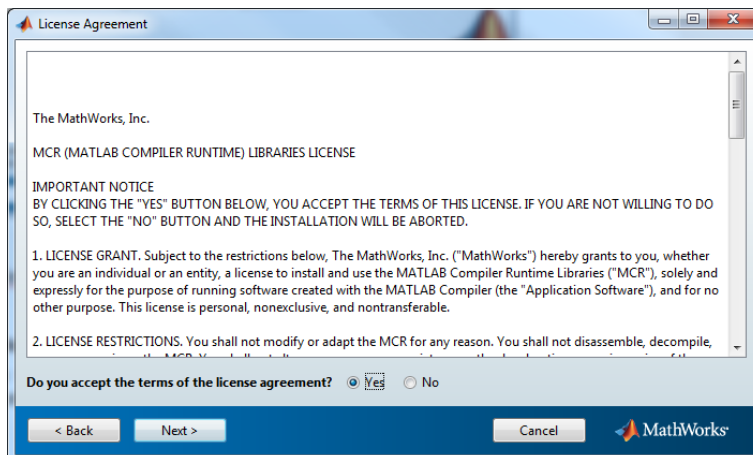


Figura 2.3 – Contrato de licença.

4. Clique em *Next*, para instalação na pasta por defeito (Figura 2.4).

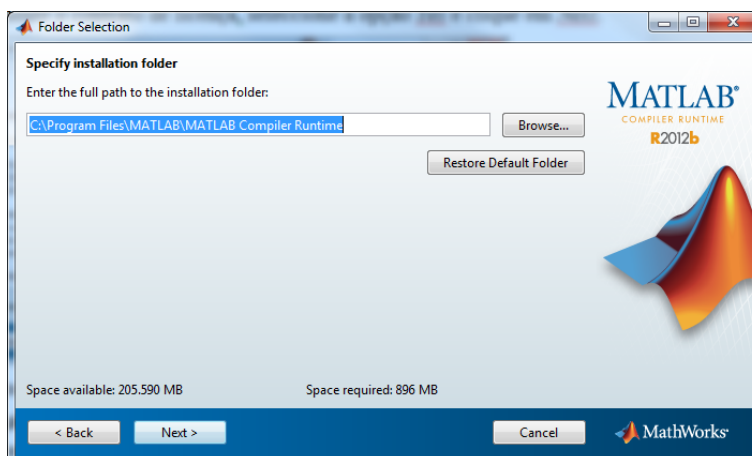


Figura 2.4 – Seleção de pasta.

5. Clique em *Yes* (Figura 2.5).

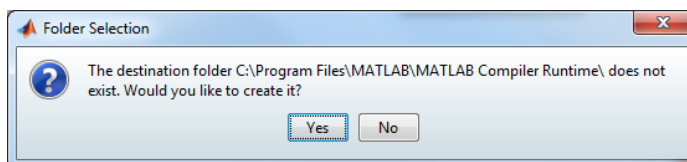


Figura 2.5 – Seleção de pasta – sim/não.

6. Clique em *Install* (Figura 2.6).

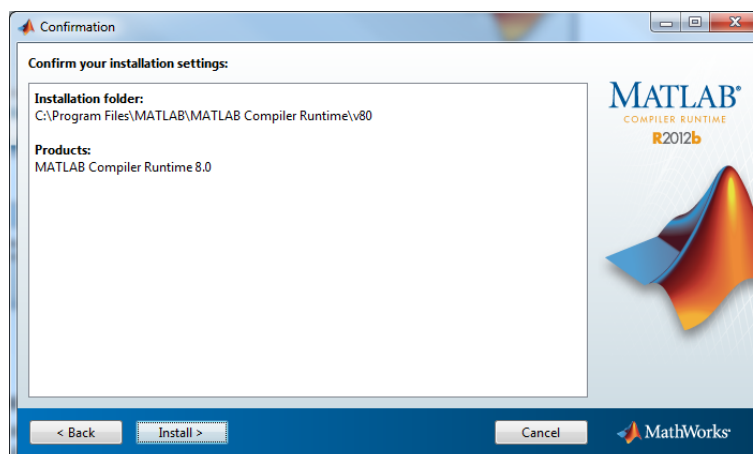


Figura 2.6 – Confirmação de instalação.

7. Aguarde que a instalação termine (Figura 2.7).

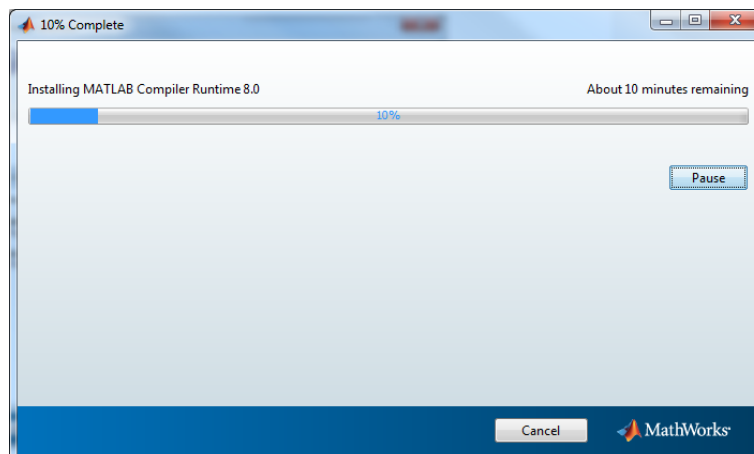


Figura 2.7 – Progresso de instalação

8. Clique em *Finish* (Figura 2.8).

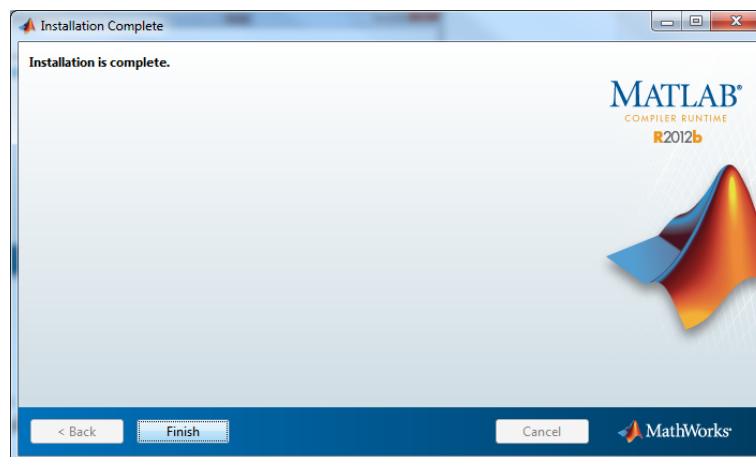


Figura 2.8 – Finalização da instalação

2.2 Desinstalação

Para desinstalar, apague a pasta do pacote de aplicação e desinstale o MCR usando para isso a funcionalidade do Windows:

1. Aceda ao *Painel de Controlo*.
2. Clique em *Adicionar/Remover Programas* para Windows XP ou em *Programas e Funcionalidade* em Windows Vista/7.
3. Selecione o programa *MATLAB Compiler Runtime 8*.
4. Clique em *Remover* para Windows XP ou em *Desinstalar* em Windows Vista/7.

3. Aplicação Estudos de Captação

A aplicação Estudos de Captação divide-se em dois módulos:

- Tratamento de dados;
- Comparação de dados.

Ao iniciar-se a aplicação visualiza-se o módulo tratamento de dados.

3.1 Módulo Tratamento de Dados

A Figura 3.1 representa o módulo Tratamento de dados.

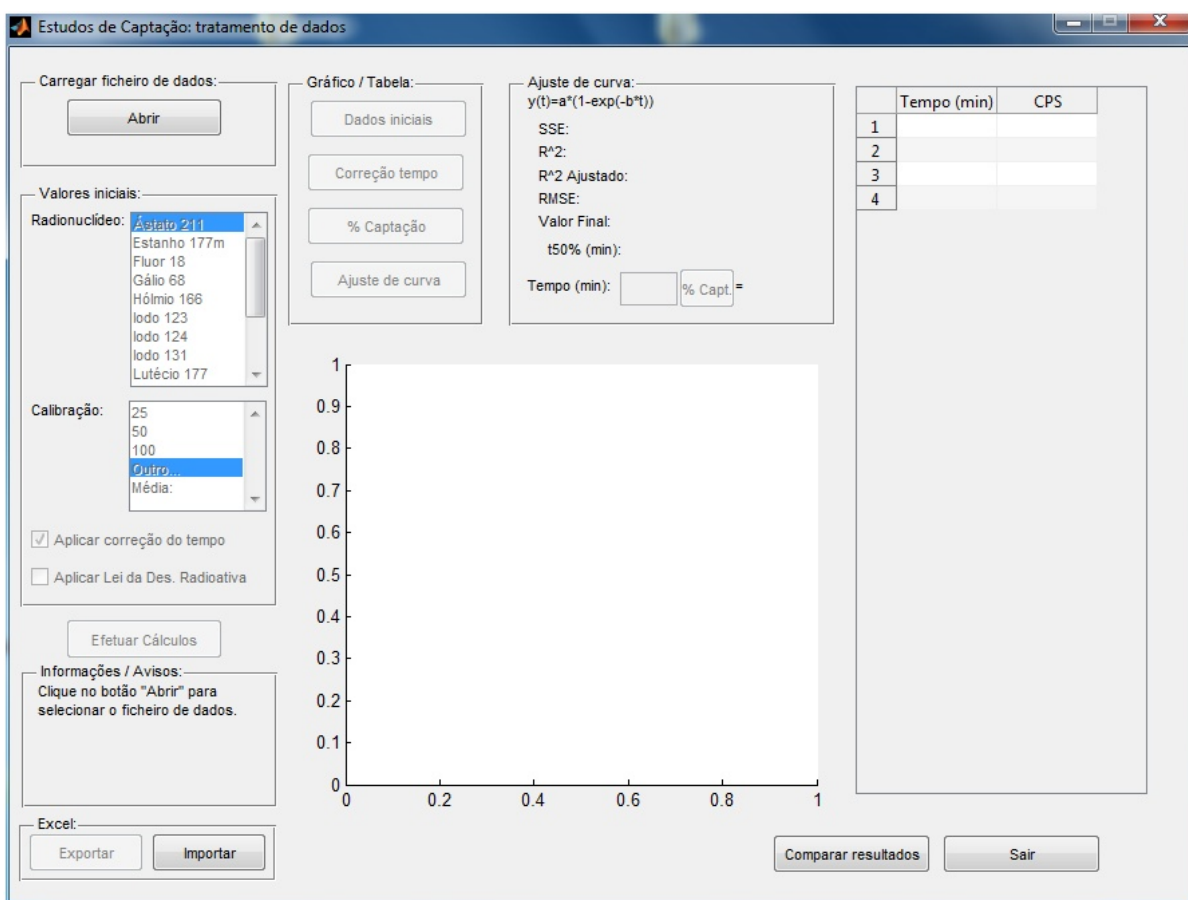


Figura 3.1 – Módulo Tratamentos de dados

Através deste módulo pode:

- Abrir um ficheiro exportado do LigandTracer® Software 1.0 e proceder à sua análise;
- Exportar resultados do estudo de captação para o formato Excel;
- Importar um ficheiro no formato Excel gerado por esta aplicação;
- Aceder ao módulo Estudos de Captação: Comparar Resultados;
- Fechar a aplicação clicando em *Sair*.

3.2 Módulo Comparar Resultados

No módulo Comparar resultados (Figura 3.2) pode comparar vários resultados obtidos no módulo de Tratamento de dados, que foram exportados para Excel, efetuar o ajuste de curva único dos valores das várias percentagens de captação visualizadas no momento e respectivos parâmetros de ajuste de curva.

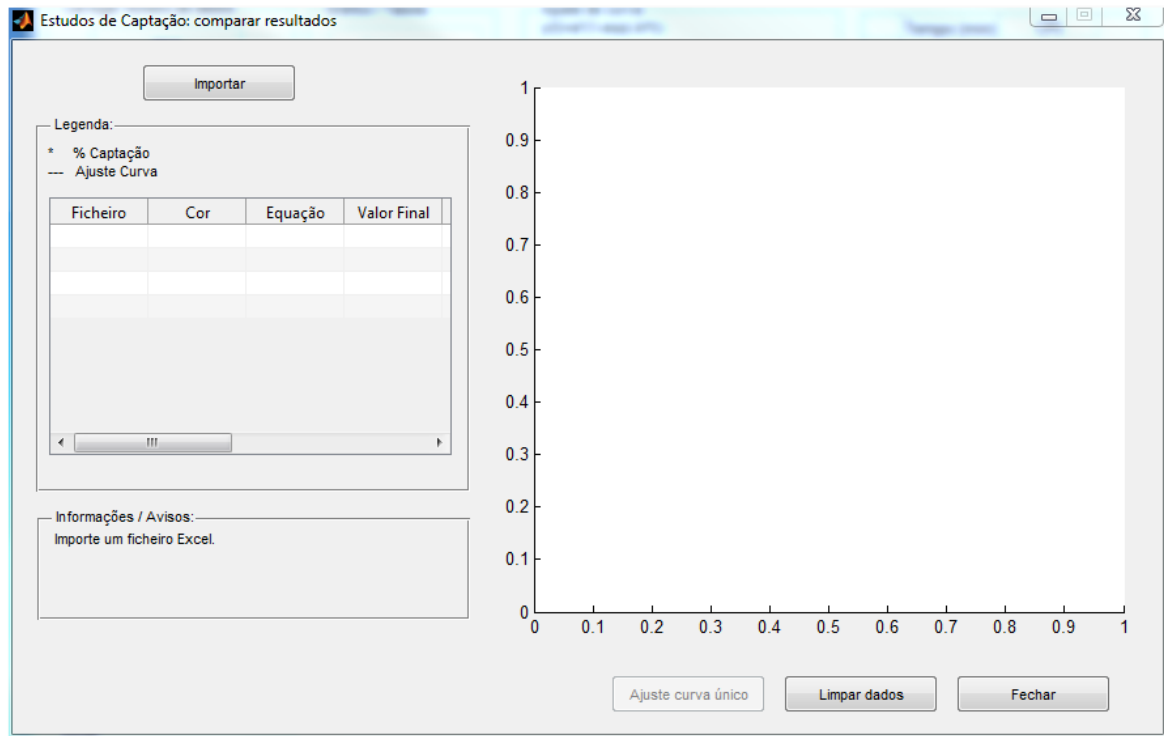


Figura 3.2 – Módulo Comparar resultados.

4. Funcionalidades

4.1 Tratamento de Dados

4.1.1 Visualização dos dados de ficheiro exportado do LigandTracer® Software 1.0

Para visualizar os dados de um ficheiro exportado do LigandTracer® Software 1.0 siga os seguintes passos:

1. Clique em *Abrir*.
2. Selecione o ficheiro de dados (formato *txt*) e clique em *Abrir* (Figura 4.1).

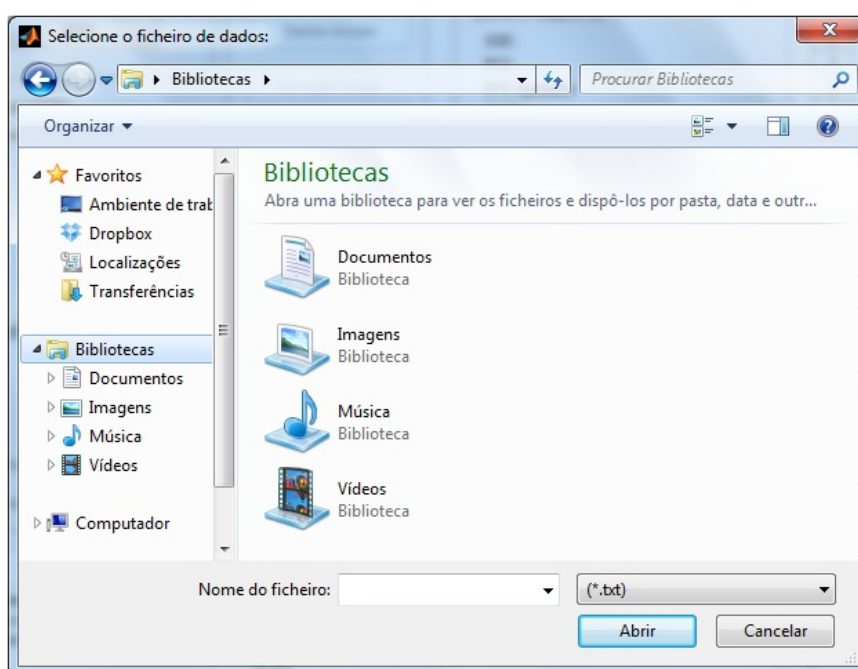


Figura 4.1 – Seleção de ficheiro de dados

É visualizado graficamente e em tabela os dados contidos no ficheiro, Figura 4.2: tempo (minutos) em função das contagens por segundo (CPS).

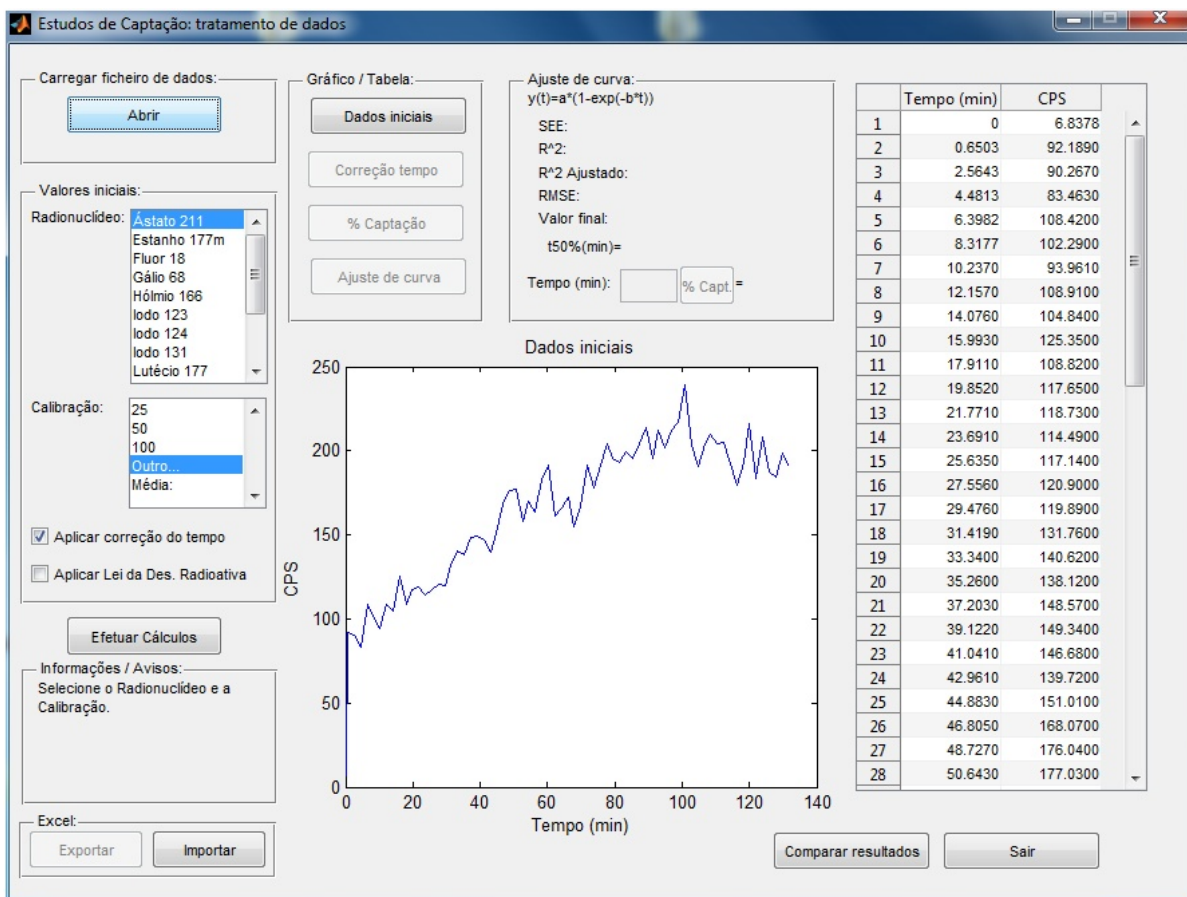


Figura 4.2 – Visualização de dados importados de ficheiro .txt

Nota: As opções *Correção de dados*, *% Captação*, *Ajuste de Curva*, *Exportar* e cálculo da percentagem de captação em função do tempo, só ficarão ativas após clicar em *Efetuar Cálculos* (Figura 4.2).

4.1.2 Cálculo da percentagem de captação e dados de ajuste de curva

Após carregar os dados contidos no ficheiro, para efetuar o cálculo da percentagem de captação e dos dados de ajuste de curva, siga os seguintes passos para a definição de valores iniciais:

1. Selecione o radionuclídeo correspondente ao ficheiro que está a visualizar (Figura 4.3).

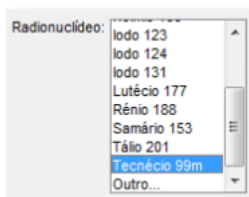


Figura 4.3 – Lista de radionuclídeos

1.1. Caso o radionuclídeo utilizado não esteja listado, selecione a opção *Outro..*

1.1.1. Insira o valor do tempo de semi-desintegração do radionuclídeo em minutos (Figura 4.4).

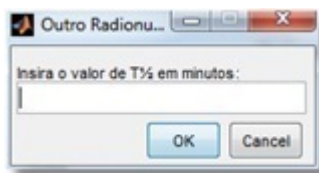


Figura 4.4 – Introdução do tempo de semi-desintegração

1.1.2. Clique em *Ok*.

2. Cada radionuclídeo tem 3 tipos de calibração associados: 25, 50 ou 100 microcuries de radiofármaco. Selecione a que melhor se adapte (Figura 4.5).

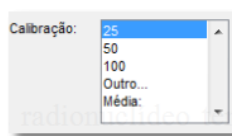


Figura 4.5 – Lista de calibração

Caso o radionuclídeo selecionado no ponto anterior não tenha calibração definida, ficará selecionado a opção *Outro...* e é mostrado um aviso na zona de *Informações/Avisos* (Figura 4.6).

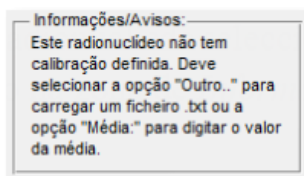


Figura 4.6 – Informações/Avisos

Pode então seguir por dois caminhos:

2.1. Selecione a opção *Outro...*

2.1.1. Selecione o ficheiro de calibração (formato *txt*) que foi previamente exportado através do LigandTracer® Software 1.0 (Figura 4.7).

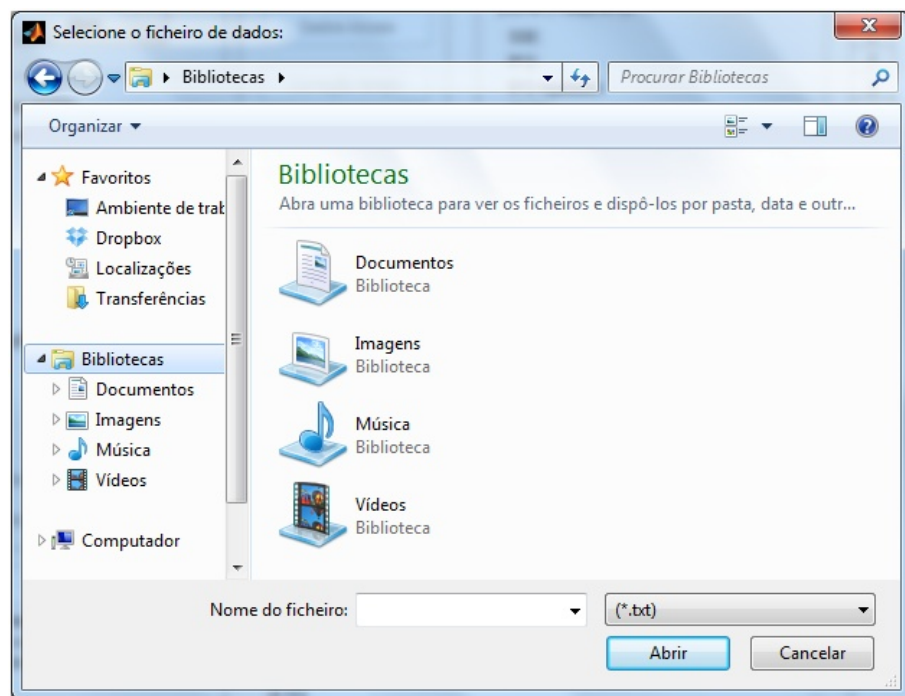


Figura 4.7 – Seleção de ficheiro de dados de calibração.

2.1.2. Clique em *Abrir*.

2.2. Selecione a opção *Média*.

2.2.1. Introduza o valor da média de calibração (Figura 4.8).

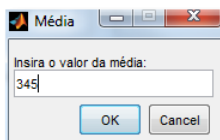


Figura 4.8 – Introdução de valor média de calibração

2.2.2. Clique em *Ok*.

3. Indique se pretende aplicar a correção do tempo. Se sim selecione a respectiva caixa de seleção (Figura 4.9).



Figura 4.9 – Aplicar correção do tempo

4. Indique se pretende aplicar a lei da desintegração radioativa. Se sim selecione a respectiva caixa de seleção (Figura 4.10).

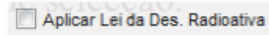


Figura 4.10 – Aplicar Lei da Desintegração Radioativa.

5. Clique em *Efetuar Cálculos*.

É apresentado a seguinte informação (Figura 4.11):

- Visualização gráfica e em tabela do tempo (minutos) em função da percentagem de captação;
- Visualização dos parâmetros do ajuste de curva:
 - Equação de ajuste, em que y representa a percentagem de captação e t o tempo;
 - Soma dos quadrados dos resíduos (SEE);
 - R-quadrado (R^2);
 - R-quadrado (R^2) ajustado;
 - Erro médio quadrático (RMSE);
 - Valor final para que tente a equação de ajuste;
 - Tempo, em minutos, que demora a atingir cinquenta por cento do valor final ($t_{50\%}$).

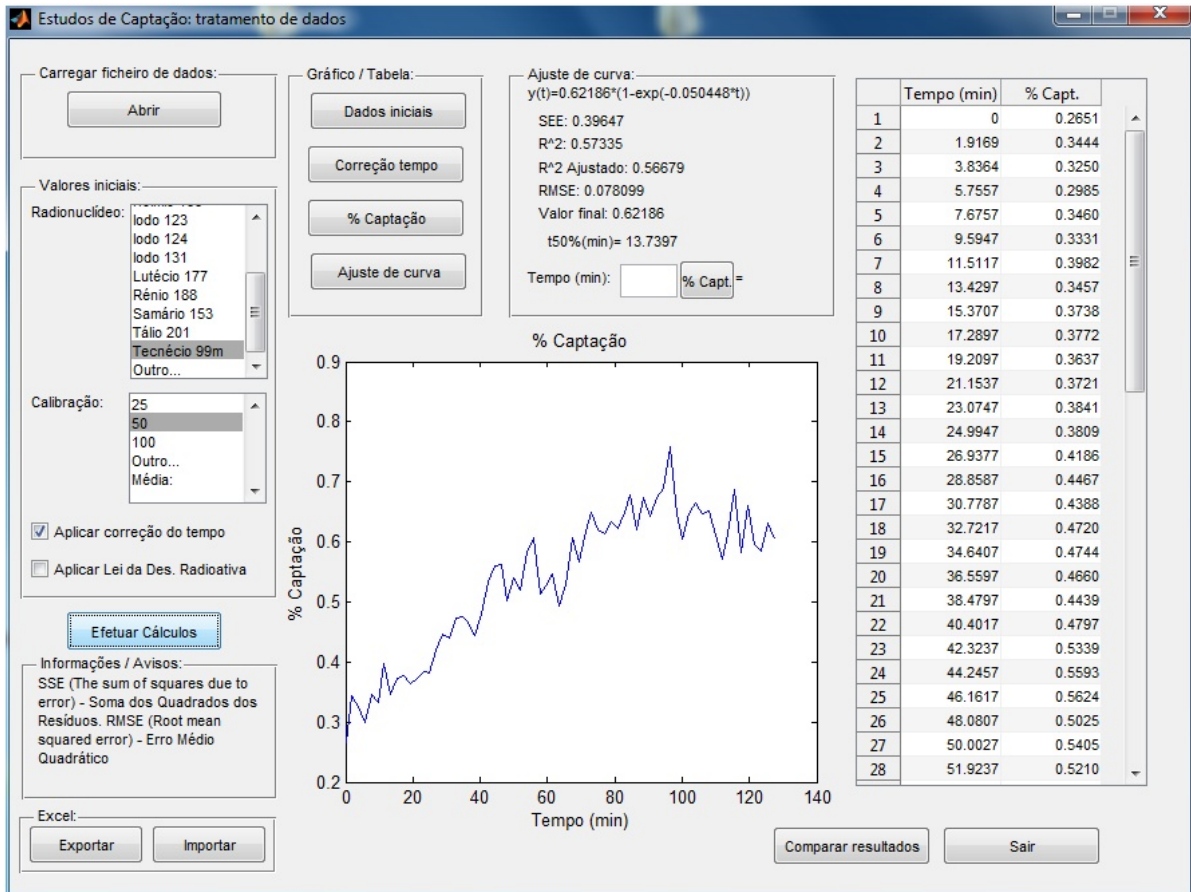


Figura 4.11 – Tratamento de Dados, visualização de resultados.

Clique em *Ajuste de curva*, para visualizar o gráfico tempo em função da percentagem de captação e curva de ajuste (Figura 4.12).

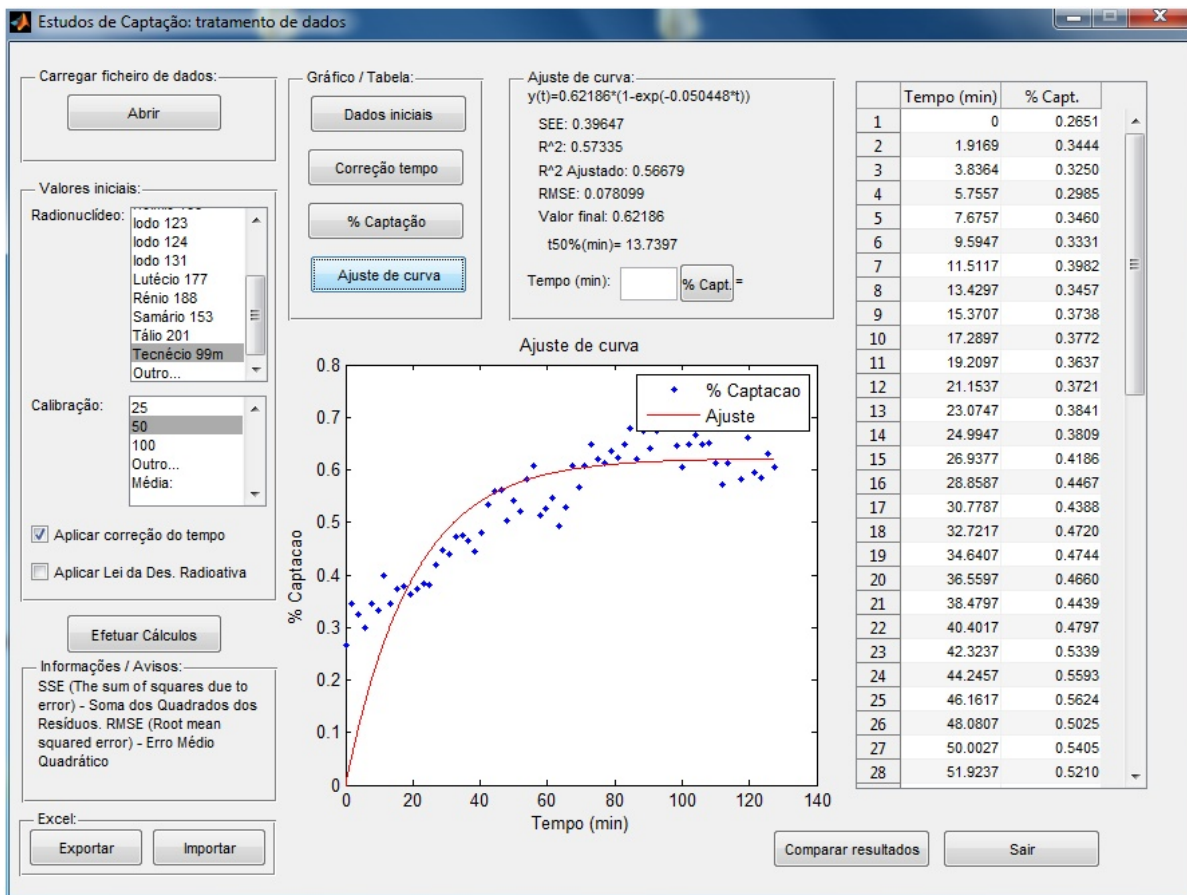


Figura 4.12 – Tratamento de Dados, ajuste de curva.

Caso ocorra algum erro durante os cálculos é mostrado o seguinte aviso na zona de *Informações / Avisos* (Figura 4.13):

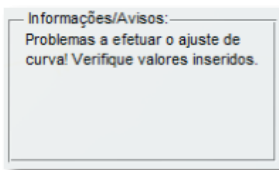


Figura 4.13 – Informações/Avisos.

Para visualizar dados de outro ficheiro exportado do LigandTracer® Software 1.0 clique em *Abrir*, para serem carregado os novos dados a utilizar.

4.1.2.1 Visualização de gráficos e tabelas

Os gráficos a seguir indicados e as respectivas tabela de valores, podem ser visualizados selecionando as respectivas opções (Figura 4.14):

- *Dados iniciais*, visualização dos dados importados do ficheiro: tempo (minutos) em função das contagens por segundo.
- *Correção do tempo*, visualização dos dados importados do ficheiro com correção no tempo: tempo corrigido (minutos) em função das contagens por segundo. (Esta opção apenas fica disponível após clicar em *Efetuar cálculos* e se indicar que pretende aplicar a correção do tempo, como foi indicado no ponto 4.1.2.)
- *% Captação*, visualização do tempo (minutos) em função da percentagem de captação. Esta opção apenas fica ativa após clicar em *Efetuar cálculos*.
- *Ajuste de Curva*, visualização do tempo (minutos) em função da percentagem de captação e a curva de ajuste. Esta opção apenas fica ativa após clicar em *Efetuar cálculos*.

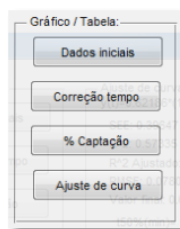


Figura 4.14 – Gráfico/Tabela.

4.1.3 Visualização do gráfico numa janela maior

Para visualizar o gráfico numa janela maior, siga os seguintes passos:

1. Clique no gráfico com o botão do lado direito.
2. Clique em *Abrir gráfico numa nova janela*.

É apresentada a seguinte janela (Figura 4.15) contendo o respectivo gráfico.

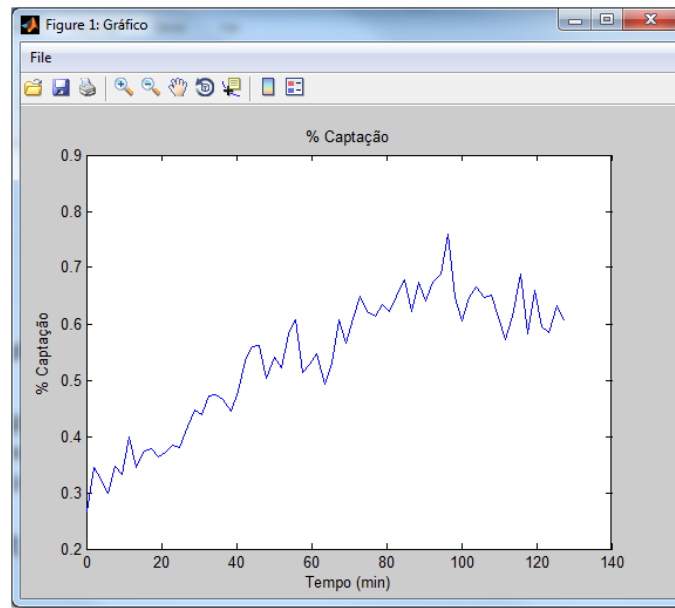


Figura 4.15 – Visualização de gráfico

Para gravar o gráfico em formato de imagem, siga os seguintes passos:

1. Clique em *File*.
2. Clique em *Save as...*
3. Indique o nome do ficheiro, o local onde pretende gravar e selecione o formato de imagem pretendido em *Guardar com o tipo* (Figura 4.16).

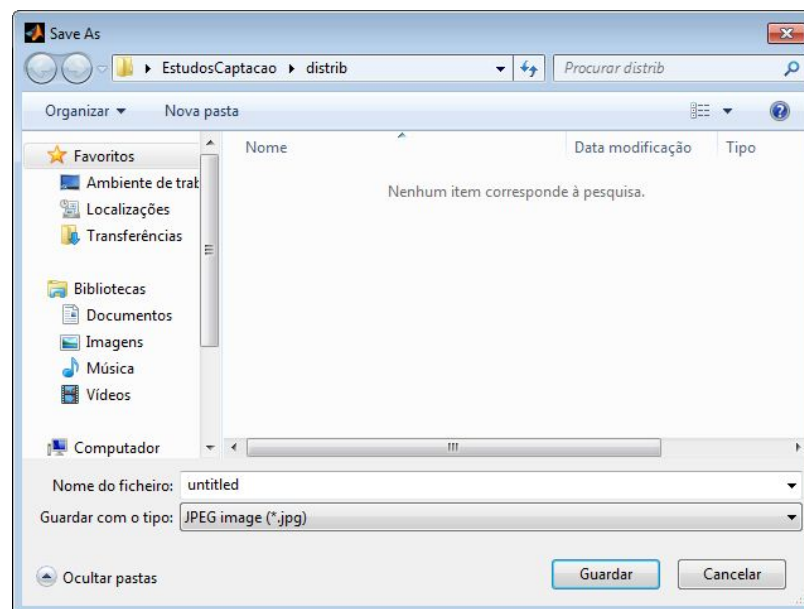


Figura 4.16 – Guardar gráfico.

4. Clique em *Guardar*.

4.1.3.1 Cálculo da percentagem de captação em função de um tempo introduzido.

Após visualizar os parâmetros do ajuste de curva, pode calcular a percentagem de captação em função de um tempo, usando a equação de ajuste apresentada, para tal deve:

1. Introduza o valor do tempo na caixa tempo.
2. Clique em % Capt.

É apresentado o valor da percentagem de captação em função do tempo introduzido (Figura 4.17).

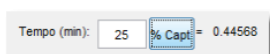


Figura 4.17 – Cálculo da percentagem de captação em função do tempo.

4.1.4 Exportar resultados

Para exportar dados gerados na aplicação para um ficheiro Excel, efetue os seguintes passos:

1. Clique em *Exportar*.
2. Indique em que pasta pretende guardar o ficheiro (Figura 4.18).

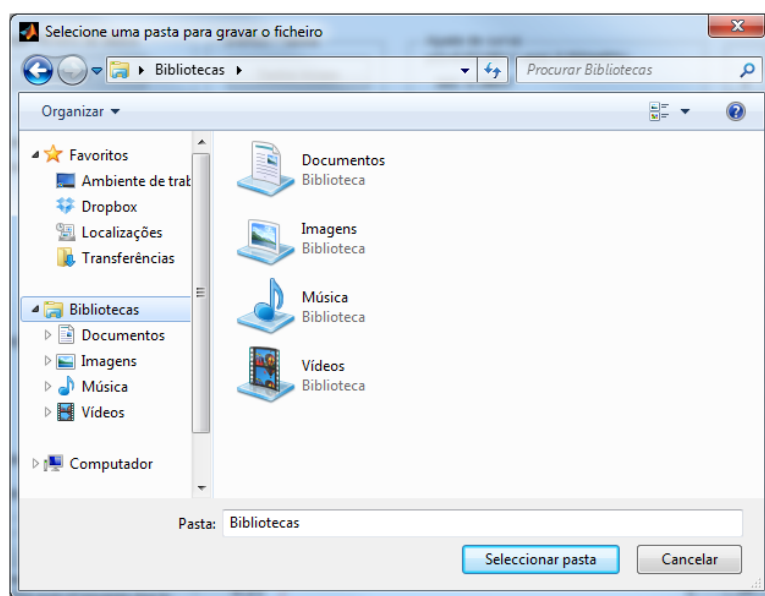


Figura 4.18 – Seleção de pasta para gravar ficheiro

3. Clique em *Selecionar Pasta*.

4. Insira o nome do ficheiro (Figura 4.19).

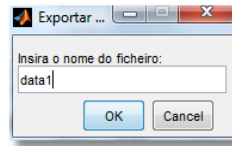


Figura 4.19 – Inserção nome do ficheiro.

5. Clique em *Ok*.

6. Aguarde até que seja mostrado a mensagem de dados gravados (Figura 4.20).

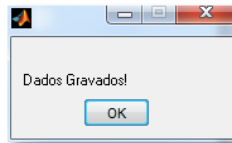


Figura 4.20 – Mensagem: Dados Gravados!

7. Clique em *Ok*.

O ficheiro Excel apresenta a seguinte informação (Figura 4.21):

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
1	Dados iniciais		Dados iniciais	Tempo Corrigido	Tecnécio 99m	13	Calibração		% Captação		Ajuste de Curva:		
2	Tempo (min)	CPS	Tempo (min)	CPS	Tempo de vida (min):	360,42	Média	31477,79957	Tempo (min)	% Captação	y(t)=0.62186*(1-exp(-0.050448*t))		
3	0	6,8378	0	83,463					0	0,265148775	SEE: 0.39647		
4	0,65026	92,189	1,9169	108,42					1,9169	0,344433224	R^2: 0.57335		
5	2,5643	90,267	3,8364	102,29					3,8364	0,324959182	R^2 Ajustado: 0.56679		
6	4,4813	83,463	5,7557	93,961					5,7557	0,298499264	RMSE: 0.078099		
7	6,3982	108,42	7,6757	108,91					7,6757	0,345989877	Valor final: 0.62186		
8	8,3177	102,29	9,5947	104,84					9,5947	0,333060129	t50%(min)= 13.7397		
9	10,237	93,961	11,5117	125,35					11,5117	0,398217162			
10	12,157	108,91	13,4297	108,82					13,4297	0,345703961			
11	14,076	104,84	15,3707	117,65					15,3707	0,373755477			
12	15,993	125,35	17,2897	118,73					17,2897	0,377186467			
13	17,911	108,82	19,2097	114,49					19,2097	0,363716656			
14	19,852	117,65	21,1537	117,14					21,1537	0,372135288			
15	21,771	118,73	23,0747	120,9					23,0747	0,384080214			
16	23,691	114,49	24,9947	119,89					24,9947	0,380871604			
17	25,635	117,14	26,9377	131,76					26,9377	0,41858072			

Figura 4.21 – Resultados exportados para ficheiro Excel

Nota: Esta opção só fica ativa após ter efectuado o passo descrito no ponto 4.1.2.

4.1.5 Importar resultados

A qualquer momento pode importar para a aplicação um ficheiro que tenha sido gerado e exportado para Excel como referido no ponto 4.1.4. Para isso, efetue os seguintes passos:

1. Clique em *Importar*.
2. Indique qual o ficheiro Excel que pretende importar (Figura 4.22).

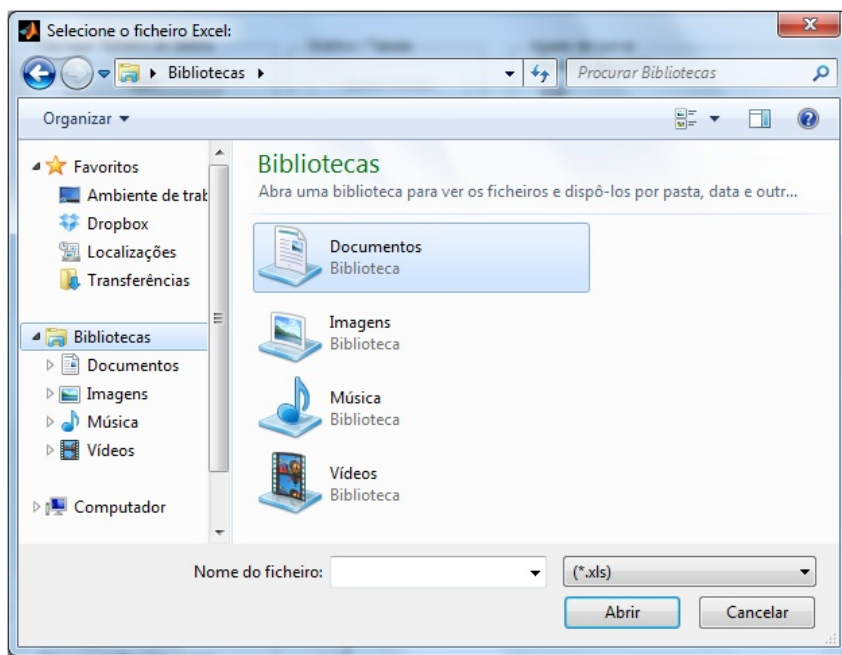


Figura 4.22 – Seleção de ficheiro no formato Excel

3. Clique em *Abrir*.

É mostrada toda a informação contida no ficheiro.

4.1.6 Sair de Estudos de Captação

Para fechar o módulo Tratamento de dados clique em *Sair*.

4.2 Comparar Resultados

Para comparar vários resultados de várias captações tem que usar os ficheiros Excel gerados pela opção *Exportar* no módulo Tratamento de dados.

Para tal, estando no módulo Tratamento de Dados, deverá efetuar os seguintes passos:

1. Clique em *Comparar Resultados*.
2. É apresentado o módulo Comparar resultados (Figura 4.23).

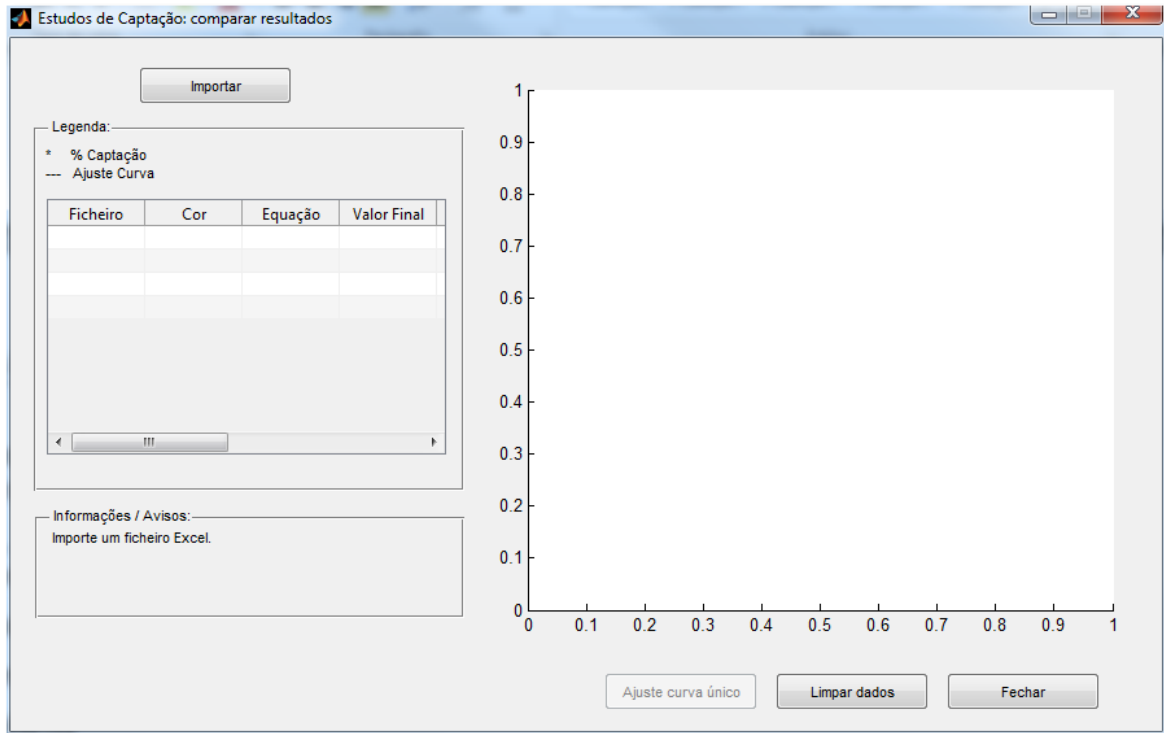


Figura 4.23 – Módulo Comparar resultados

3. Clique em *Importar*.
4. Selecione apenas um ficheiro Excel (Figura 4.24).

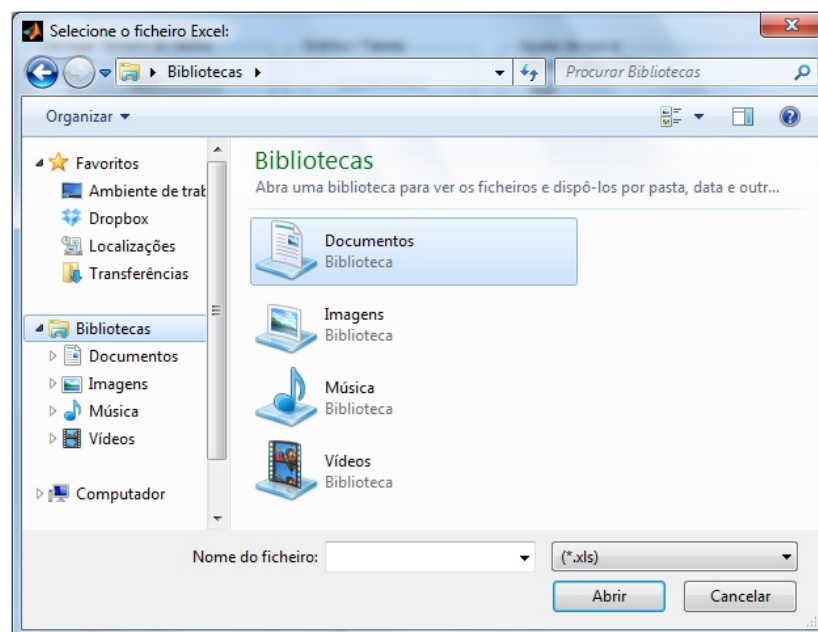


Figura 4.24 – Seleção de ficheiro no formato Excel

5. Clique em *Abrir*.

6. Selecione a cor que pretende atribuir à linha do gráfico (Figura 4.25).

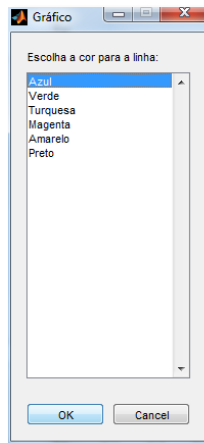


Figura 4.25 – Seleção de cor de linha do gráfico

7. Clique em Ok.

Será mostrado os dados de ajuste de curva e o respectivo gráfico na tabela (Figura 4.26). Caso ocorra algum problema na importação de dados, será apresentando mensagem na zona de *Informações / Avisos*.

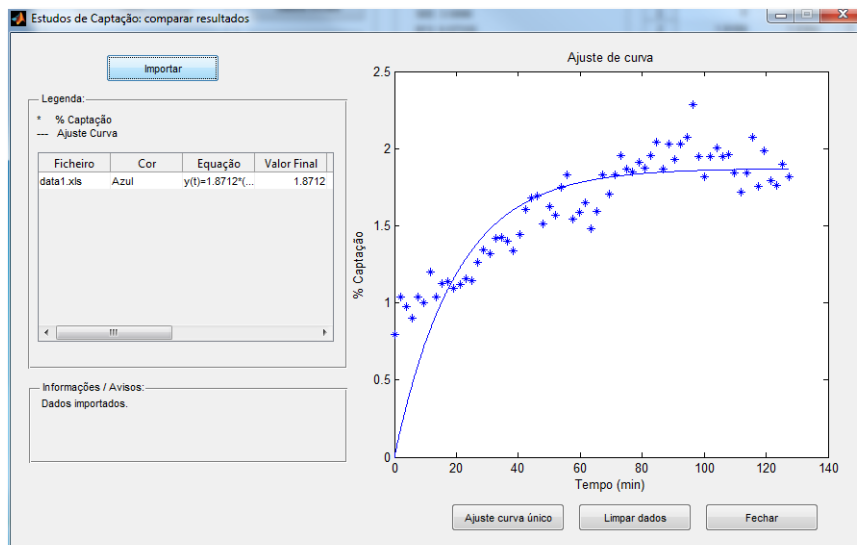


Figura 4.26 – Visualização de dados importados

Para importar outros ficheiros em Excel, volte ao passo 2.

4.2.1 Ajuste de curva único

Pode efetuar o ajuste de curva único para todas os estudos de captação que está a visualizar no módulo Comparar resultados, clicando na opção *Ajuste curva único*.

É adicionado uma nova linha na tabela com os parametros do ajuste de curva único e apresentado no gráfico, a cor vermelho, a respectiva curva (Figura 4.27).

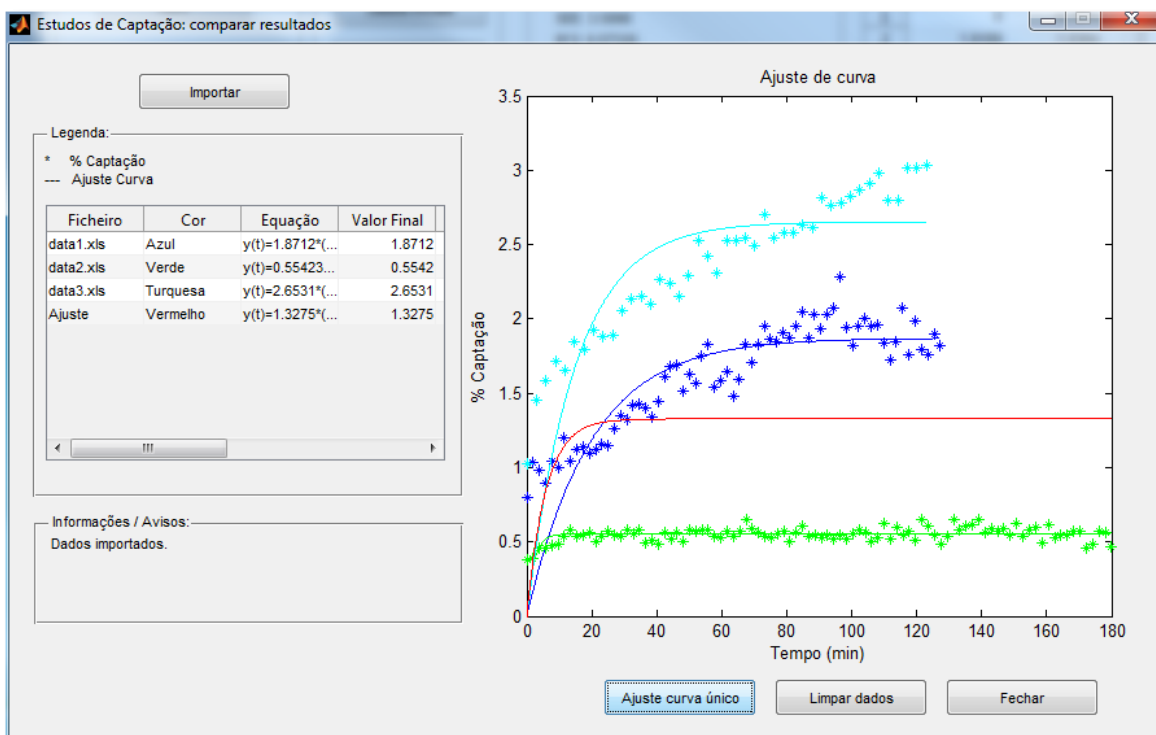


Figura 4.27 – Visualização de ajuste de curva único

4.2.2 Visualização do gráfico numa janela maior

Pode visualizar o gráfico numa janela maior, siga os seguintes passos:

1. Clique com o botão do lado direito em cima da zona do gráfico.
2. Clique em *Abrir gráfico numa nova janela*.

É apresentado nova janela com o respectivo gráfico (Figura 4.28).

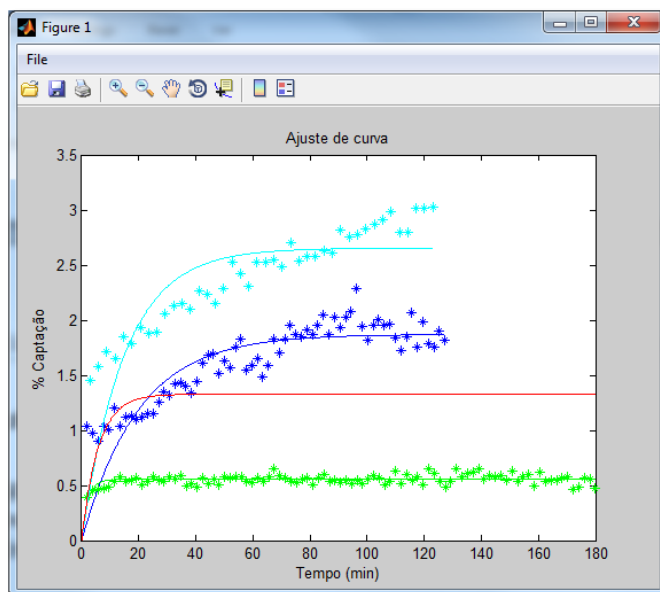


Figura 4.28 – Visualização de gráfico

Para salvar o gráfico em formato de imagem:

5. Clique em *File*.
6. Clique em *Save as...*
7. Indique o nome do ficheiro, o local onde pretende gravar e seleccione o formato de imagem pretendido em *Guardar com o tipo* (Figura 4.29).

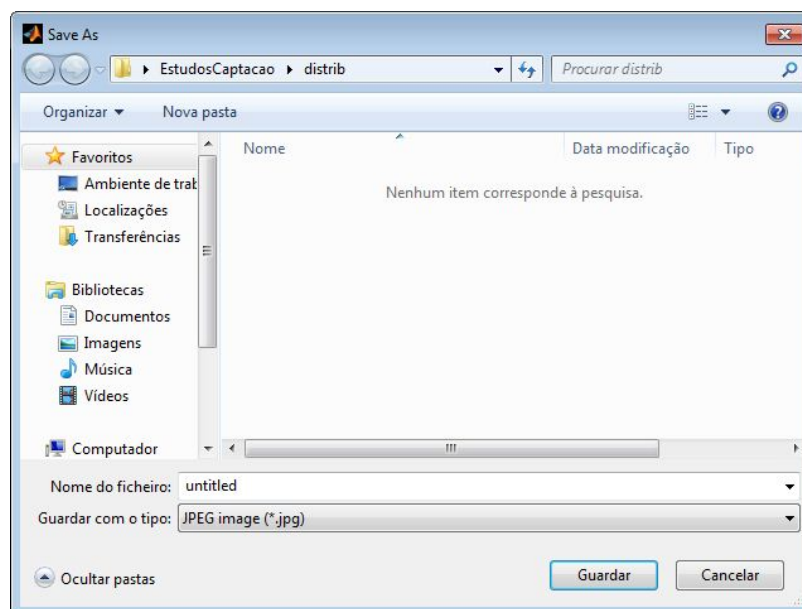


Figura 4.29 – Seleção de pasta para gravar ficheiro

8. Clique em *Guardar*.

4.2.3 Efectuar nova comparação

Para efectuar uma nova comparação, clique em *Limpar dados* para eliminar linhas da tabela e eliminar o gráfico actual.

4.2.4 Fechar Módulo Comparar Resultados

Para fechar o módulo Comparar resultados clique em *Fechar*.

4.3 Sair de Estudos de Captação

Para sair da aplicação Estudos de Captação deve clicar em *Sair* no módulo Tratamento de dados.