

Índice

1 - Resumo	4
2 - <i>Abstract</i>	5
3- Lista de acrónimos	6
4 - Introdução	8
5 - Materiais e métodos	10
6 - Doença cardiovascular	11
7 - Aterosclerose.....	12
7.1 - Conceitos gerais	12
7.2 - Fisiopatologia da aterosclerose	13
7.2.1 - Disfunção endotelial.....	13
7.2.2 - Resposta fibroproliferativa	14
7.2.3 - Calcificação vascular.....	15
7.2.4 - Angiogénese	16
8 - Patogénese da placa aterosclerótica instável.....	17
8.1 - Rutura de placa.....	17
8.2 - Erosão de placa.....	18
8.3 - Calcificação	18
9 - Imagiologia Molecular – Técnicas de Medicina Nuclear	19
9.1 - Definição	19
9.2 – SPECT e PET aplicadas à imagiologia molecular.....	20

10 - Aquisição de imagem por SPECT e PET	22
11 - Alvos da imagiologia molecular	23
12 - SPECT - radiofármacos e suas aplicações	25
13 - PET – radiofármacos e suas aplicações	26
13.1 - PET - detecção de angiogênese.....	26
13.2 - PET - recetores de superfície de macrófagos e apoptose	26
14 - PET e ^{18}F -FDG	31
14.1 - ^{18}F -FDG e artérias carótidas.....	31
14.2 - ^{18}F -FDG e artérias coronárias	33
14.3 - ^{18}F -FDG e artéria aorta.....	35
15 - PET e ^{18}F -NaF.....	36
15.1 - ^{18}F -NaF nas coronárias.....	37
16 - Comparação entre ^{18}F -FDG e ^{18}F -NaF	39
17 - Aplicações terapêuticas da PET.....	40
17.1 - Terapêutica com estatinas	40
17.2 - Outros fármacos em investigação	44
18 - Discussão e conclusão.....	45
19 - Bibliografia	49

1 - Resumo

A doença cardiovascular (DCV) é, atualmente, a principal causa de mortalidade nos países desenvolvidos. Na sua base está a aterosclerose com formação de placas no lúmen arterial das artérias de grande e médio calibre. A ruptura ou erosão dessas placas pode resultar em eventos agudos e os mecanismos fisiopatológicos subjacentes devem ser reconhecidos para uma prevenção, diagnóstico e terapêutica mais eficiente. O conhecimento da fisiopatologia adquirido com as técnicas imagiológicas convencionais é, contudo, limitado.

Nesse sentido, a imagiologia molecular, que inclui técnicas como a tomografia de emissão de pósitrons (PET) e tomografia computadorizada por emissão de fóton único (SPECT), veio permitir a caracterização *in vivo* de processos biológicos a nível celular e molecular e apresentou-se como recurso importante nesta área. A associação destas técnicas à tomografia computadorizada (TC) – imagem híbrida - permitiu aumentar as suas capacidades diagnósticas, com aquisição simultânea de dados funcionais e anatómicos. Nos últimos anos, avanços nesta área têm disponibilizado novos radiofármacos como o fluorodesoxiglucose F^{18} (^{18}F -FDG) e o fluoreto de sódio F^{18} (^{18}F -NaF) e, mais recentemente, o ^{11}C -PK11195, ^{68}Ga -DOTATATE entre outros. O aumento da disponibilidade e qualidade dos radiofármacos tem conduzido a uma marcação mais específica dos alvos moleculares e, conseqüentemente, a uma melhoria na deteção das características associadas a instabilidade da placa aterosclerótica como a atividade inflamatória, neovascularização, apoptose, hemorragia e microcalcificação. A eficácia da terapêutica dirigida à aterosclerose e a capacidade de fazer monitorização da mesma com recurso a estas técnicas está também em investigação com resultados muito promissores, principalmente no que se refere ao uso de estatinas. No entanto, apesar do grande potencial inerente a estas técnicas imagiológicas, mais estudos são ainda necessários para consolidar a sua aplicação clínica em larga escala.

Palavras Chave

Aterosclerose, Doença Cardiovascular, Imagiologia Molecular, PET, SPECT, radiofármaco, resposta inflamatória, estatinas

2 - Abstract

Currently, cardiovascular disease is the major cause of mortality in developed countries. Atherosclerosis leads to plaque formation at the lumen of medium and large arteries. Plaque rupture or erosion can lead to acute events so pathophysiological mechanism underlying such events must be recognized in order to allow more efficient prevention, diagnosis and therapeutics. However, knowledge achieved with conventional imagiology techniques is restricted.

Molecular imaging, which includes techniques such as Positron Emission Tomography (PET) and Single-photon Emission Computed Tomography (SPECT), allows in vivo cellular and molecular biological processes characterization and represents an important resource in the field. Association between these techniques and Computed Tomography (TC) - hybrid imaging - increases diagnostic capabilities, as a result of a simultaneous functional and anatomical data acquisition. During the past few years, progress in the field has provided new radiotracers such as [18]-fluorodesoxiglucose (^{18}F -FDG) and sodium fluoride (^{18}F -NaF) and, more recently, ^{11}C -PK11195, ^{68}Ga -DOTATATE among others. Increased radiotracer availability and quality has led to more specific molecular target tracing and consequently increased instability-associated characteristics detection such as inflammatory activity, neovascularization, apoptosis, hemorrhage and

microcalcification. Atherosclerotic therapeutics efficiency and monitoring capabilities have also been investigated and are showing promising results, especially with statins. However despite its huge potential more studies are required to consolidate clinical applications of nuclear imaging.

Key words

Atherosclerosis, Cardiovascular Disease, Molecular Imaging, PET, SPECT, Inflammatory response, statins

3- Lista de acrónimos

AVC – acidente vascular cerebral

CML – célula muscular lisa

DCI – doença cardíaca isquémica

DCV – doença cardiovascular

EAM – enfarte agudo do miocárdio

ECM – matriz extracelular (*extracellular matrix*)

ICAM-1 – molécula de adesão intercelular 1 (*intercellular adhesion molecule 1*)

MCP-1 – proteína quimiotática dos monócitos 1 (*monocyte chemoattractant protein-1*)

MMP – metaloproteinase da matriz (*matrix metalloproteinases*)

OMS – Organização Mundial de Saúde

PET – tomografia por emissão de positrões (*positron emission tomography*)

SCA – síndrome coronário agudo

SPECT – tomografia computadorizada por emissão de fóton único (*single-photon emission computed tomography*)

TC – tomografia computadorizada

TCFA – fibroateroma de cápsula fina (*thin-cap fibroatheroma*)

TSPO – translocador de proteínas

VCAM-1 – molécula de adesão celular 1 (*vascular cell adhesion molecule 1*)

^{18}F -FDG – fluorodesoxiglicose (^{18}F)

^{18}F -NaF – fluoreto de sódio ^{18}F

4 - Introdução

A DCV tem visto a sua prevalência aumentar nos últimos anos e surge como a principal causa de morte nos países desenvolvidos¹. A aterosclerose é a causa mais frequentemente subjacente a estas patologias. Embora raramente seja fatal de forma isolada, a aterosclerose associa-se a trombose por rutura ou erosão da placa aterosclerótica culminando em eventos potencialmente fatais como enfarte agudo do miocárdio (EAM) ou acidente vascular cerebral (AVC)². De facto, a doença cardíaca isquémica (DCI) e a doença cerebrovascular (sobretudo o AVC isquémico) são as principais responsáveis pelo aumento da mortalidade e morbidade registadas, pois constituem a primeira e terceira causas de morte mundiais, respetivamente, representando 84.5% das mortes cardiovasculares³. Outras complicações menos prevalentes incluem a aterosclerose da aorta e a doença vascular periférica. Vários fatores contribuíram para estes números. O tabagismo em conjunto com a alteração dietética (aumento do consumo de açúcares, lípidos e sal) e a redução da atividade física estão na base de mais de 50% das mortes globais. Em 2010, o custo associado à DCV foi estimado em 863 biliões de dólares. Nos Estados Unidos da América, esse custo foi 503,2 biliões e representou cerca de 1-3% do produto interno bruto, sendo metade dessa quantia relacionada com a DCI⁴. Na Europa, esse custo foi estimado em 153,194 biliões de dólares⁴. Estes valores revelam a enorme importância atual da DCV que pode ser considerada como uma epidemia na saúde pública mundial. A aposta na prevenção primária é essencial na redução destas taxas. O aperfeiçoamento dos meios de diagnóstico da doença já estabelecida revela-se também de grande importância.

O diagnóstico da DCV assenta na história clínica e na realização de exames não-invasivos e eventualmente invasivos. Associados, estes exames fornecem informações cruciais para a deteção da doença e estratificação do risco embora revelem ainda várias

limitações. Nesse sentido, a imagiologia molecular surge como complemento às técnicas convencionais ao permitir o estudo em tempo real, no indivíduo, de eventos celulares e moleculares que outrora eram apenas passíveis de visualizar com a utilização de técnicas *in vitro*. Estas técnicas têm permitido avanços na compreensão *in vivo* da biologia da DCV caracterizando a aterosclerose, a vasculite, a patologia aneurismática ou a doença valvular aórtica⁵. A imagiologia molecular, a nível pré-clínico, permitiu identificar as características de alto risco associadas a aterosclerose como a atividade inflamatória, trombose, neovascularização, apoptose e hemorragia⁶. Assim, a capacidade para detetar e analisar de forma não invasiva placas em estádios iniciais pode permitir melhorar a estratificação do risco sem necessidade de procedimentos invasivos, sobretudo em doentes assintomáticos ou de médio risco⁷. Na área da imagiologia molecular, a tomografia computadorizada por emissão de fóton único (SPECT) e a tomografia computadorizada por emissão de positrões (PET) são os exames que apresentam maior potencial para investigação. Nas últimas duas décadas o ¹⁸F-FDG tem sido o único radiofármaco aprovado pela US Food and Drug Administration para a imagem por PET. No entanto, novos radiofármacos estão a ser investigados, alguns dos quais já com benefícios demonstrados como o ¹⁸F-NaF⁶.

Desta forma, o objetivo deste trabalho é rever o valor destas modalidades de imagem molecular, SPECT e PET, na deteção e caracterização da placa aterosclerótica e aplicação clínica no diagnóstico, estratificação de risco, prevenção de eventos agudos e monitorização de resposta terapêutica. O valor diagnóstico da fusão da SPECT e PET com a tomografia computadorizada (TC) e a discussão das suas vantagens constitui também um dos temas principais do trabalho.

5 -Materiais e métodos

Para a realização desta revisão bibliográfica foi feita uma pesquisa de artigos publicados nas bases eletrônicas de referência -BioMed, MEDLINE, PUBMED, através de um filtro com as seguintes palavras-chave: “molecular imaging”, “atherosclerosis”. Houve preferência por artigos publicados nos últimos 5 anos e na língua inglesa, embora também tenham sido utilizados artigos publicados em anos anteriores, sempre que se justificou. Entre os trabalhos selecionados contam-se artigos científicos originais e artigos de revisão. À medida que o estudo foi evoluindo, foram também analisados artigos que constavam como referências dos artigos inicialmente pesquisados, e sempre que se tornaram relevantes, foram também incluídos na bibliografia. Foram igualmente consultados “sites” internacionais de referência – *World Health Organization, American Heart Association e British Heart Foundation*.

6 - Doença cardiovascular

A DCV representa, atualmente, a primeira causa de morbidade e mortalidade a nível mundial. De acordo com dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) foi responsável por 17,5 milhões de mortes no ano de 2012, o que corresponde a cerca de 31% das mortes a nível global^{8,9}. Na Europa foi responsável por 4 milhões de mortes em 2014, com percentagem de 51 e 49% para o sexo feminino e masculino, respetivamente³. A aterosclerose surge como uma das suas principais causas. Neste grupo inclui-se a DCI, a doença cerebrovascular e a doença arterial periférica. De acordo com dados publicados pela American Heart Association, 50% dos homens e 64% das mulheres que morrem subitamente devido a DCV não têm sintomas prévios¹⁰. Desta forma, torna-se evidente que o controlo dos fatores de risco e da progressão da doença já estabelecida devem ser investigados.

Dentro do âmbito da DCV, a DCI surge como a principal causa de morte a nível global, com uma percentagem relativa de 13,2%¹¹. Clinicamente, a DCI pode ser assintomática ou manifestar-se como angina estável ou síndrome coronário agudo (SCA). A sintomatologia associada surge quando a obstrução devida à placa aterosclerótica envolve mais de 50 a 70% do lúmen^{12,13}. A mortalidade atribuída a eventos coronários tem decrescido nos últimos 40 anos podendo tal facto relacionar-se com a diminuição dos níveis de colesterol, dos hábitos tabágicos e da utilização mais frequente da revascularização coronária¹⁴. A doença cerebrovascular, cuja gravidade está relacionada com a progressão da doença aterosclerótica subjacente, foi responsável por 11,9% da mortalidade a nível mundial¹¹. Clinicamente, pode ser assintomática, originar um acidente isquémico transitório ou um AVC¹⁵. Apesar dos avanços tecnológicos registados nas últimas décadas, 60% dos pacientes que sofrem um AVC morrem ou ficam dependentes de terceiros¹⁶.

O tratamento farmacológico e a intervenção percutânea ou cirúrgica têm permitido reduzir as taxas de mortalidade e morbidade associadas. No entanto, a pesquisa de novos meios que permitam prever e prevenir a ocorrência destes eventos deve ser incentivada^{17,18}.

7 - Aterosclerose

7.1 - Conceitos gerais

A aterosclerose encontra-se subjacente à DCI e doença cerebrovascular e caracteriza-se pela formação de placas no lúmen dos vasos sanguíneos^{2,19}. Embora seja observada em 85% dos indivíduos com mais de 50 anos e em 1 em cada 6 adolescentes, a aterosclerose nem sempre causa complicações fatais¹⁹. A placa aterosclerótica é uma manifestação local de uma doença sistêmica²⁰. Os eventos que mais frequentemente colocam em risco a vida dos indivíduos são a SCA e o AVC que representam, muitas vezes, a manifestação inicial da doença²¹. Na sua origem estão fenómenos trombóticos decorrentes da ruptura ou erosão da placa aterosclerótica. Estão descritos vários fatores de risco associados ao seu desenvolvimento. Enquanto alguns fatores de risco não são modificáveis, como a história familiar, etnia, género e idade, outros, como obesidade, sedentarismo, hábitos alimentares, tabagismo, stresse, hipertensão arterial, diabetes mellitus tipo 2 e dislipidemia, podem ser alvo de intervenção, no sentido de prevenir processos que aceleram a progressão da aterosclerose como a resposta inflamatória ou o stresse oxidativo¹. Entre estes, a dislipidemia, sobretudo devido ao efeito aterogénico da lipoproteína de baixa-densidade (LDL) parece surgir como o único capaz de, isoladamente, estimular a progressão da aterosclerose^{2,13,22}. Relativamente aos

fatores protetores, o álcool, o exercício físico e a lipoproteína de alta-densidade (HDL) com a apolipoproteína A1 mostraram ser os mais relevantes².

7.2 - Fisiopatologia da Aterosclerose

A aterosclerose é uma doença imunoinflamatória e fibroproliferativa crônica das artérias de médio e grande calibre. Células endoteliais, leucócitos e células musculares lisas (CML) da íntima são componentes chave na progressão da doença. Relativamente aos processos fisiopatológicos subjacentes à aterosclerose, a disfunção endotelial, a resposta fibroproliferativa, a calcificação vascular e a angiogênese assumem um papel preponderante. O mecanismo pelo qual os elementos constituintes desta patologia interagem revela-se da maior importância no sentido de compreender os fenômenos subjacentes à progressão, instabilização e ruptura das placas².

7.2.1 - Disfunção endotelial

O endotélio disfuncional, muitas vezes com ausência ou dano das células endoteliais, é um ponto de partida frequente da lesão aterosclerótica^{2,19}. A diminuição da produção ou atividade do óxido nítrico leva a comprometimento da vasodilatação, aumento da permeabilidade endotelial e extravasamento de lipoproteínas potencialmente aterogênicas para o espaço subendotelial, como as LDL. O endotélio ativado pelo estímulo aterogênico

promove a expressão de moléculas de adesão como a molécula de adesão celular 1 (VCAM-1), molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1) e selectinas, que recrutam monócitos e células T²³. A LDL oxidada e a proteína quimiotática dos monócitos 1 (MCP-1) são as principais responsáveis por este fenómeno. A resposta inflamatória leva, numa fase precoce, ao recrutamento e diferenciação, na íntima, de monócitos em macrófagos¹⁰. Os macrófagos têm um papel importante na patogénese da doença ao englobarem grande quantidade de ésteres de colesterol, sobretudo LDL. Após a morte por apoptose ou necrose dos mesmos, o seu conteúdo liberta-se com formação de um núcleo lipídico ateromatoso (avascular, hipocelular e desprovido de colagénio) que será um abundante constituinte da placa aterosclerótica². A sua dimensão é um fator condicionante da estabilidade da placa, assim como a apoptose, ao contribuir para o aumento da trombogenicidade e atividade do fator tecidual envolvido na cascata da coagulação. Outras importantes funções dos macrófagos incluem: formação de matriz extracelular (ECM); produção de proteases como metaloproteinases da matriz (MMP) que degradam o colagénio e a elastina responsáveis pela elasticidade e resistência dos vasos, causando danos na cápsula fibrosa da placa. Estes efeitos podem conduzir a instabilidade e rutura da placa aterosclerótica^{10,23}. Estas funções transformam o papel benéfico inicial destas células num potencial efeito negativo para a progressão da aterosclerose¹⁰.

7.2.2 - Resposta fibroproliferativa

A resposta fibroproliferativa mediada pelas CMLs é também importante na progressão da aterosclerose. Estas células são responsáveis pela cicatrização e reparação após lesão arterial. No entanto, se um estímulo aterogénico intenso persistir ao longo dos anos, esta resposta pode tornar-se exagerada reduzindo o fluxo sanguíneo e potenciando o aparecimento

de isquemia. Embora esta resposta possa ser prejudicial, as CMLs conferem proteção contra fenómenos nefastos como a rutura da placa e a trombose. De facto, a sua morte conduz ao aumento da fragilidade da cápsula fibrosa da placa aterosclerótica em virtude do aumento de produção de MMP. Devido a estas capacidades protetoras, a proliferação destas células é considerada benéfica, enquanto a sua morte ou diminuição de função é considerada prejudicial, o que é sugerido pela perda local das mesmas em zonas onde ocorre rutura de placas^{2,24}.

7.2.3 - Calcificação vascular

A calcificação vascular é outro fenómeno muito comum na patogénese da aterosclerose e consiste num processo complexo considerado patognomónico de aterosclerose. A mineralização é marcada inicialmente pela formação de nódulos microscópicos calcificados que crescem e se convertem em depósitos macroscópicos. Embora não exista consenso absoluto na categorização, estabeleceu-se micro e macrocalcificação para nódulos <50 e >50 picómetros de diâmetro, respetivamente²⁵. Esta distinção é importante porque embora a macrocalcificação confira estabilidade à placa, a microcalcificação está associada a instabilidade da mesma e, conseqüentemente, eventos cardiovasculares adversos^{25,26}. Observações clínicas revelaram que as placas responsáveis pela SCA têm, em geral, menor grau de calcificação quando comparadas com aquelas responsáveis pela angina estável, que têm maior grau e aumenta a estabilidade^{2,24,26}. Isto deve-se, em parte, ao facto de a microcalcificação criar zonas de fragilidade na cápsula fibrosa tornando-a mais susceptível à ação das forças hemodinâmicas e fenómenos de rutura. Outro fator é a ativação de macrófagos pelos cristais de hidroxiapatite que serão posteriormente endocitados pelos

macrófagos ativados contribuindo para o aumento das dimensões do núcleo necrótico²⁴. Consequentemente, técnicas não invasivas que permitam detetar e diferenciar micro de macrocalcificação podem ser úteis na identificação de placas em risco de rutura.

7.2.4 - Angiogénese

A angiogénese, frequente na doença avançada, é um fator indutor de vulnerabilidade na placa^{2,23,27}. Estudos mostraram que há uma correlação significativa entre a densidade de neovasos e o conteúdo de macrófagos nas artérias carótidas e o número de placas ateroscleróticas instáveis nas artérias coronárias²⁴. Os *vasa vasorum* proliferam desde a túnica adventícia, passando pela média até à base da placa onde são mais abundantes, frágeis e permeáveis. Isto predispõe a hemorragia e serve como porta de entrada a células imunes, lipoproteínas, plaquetas e ao crescimento do núcleo lipídico por acumulação do colesterol existente nas membranas dos eritrócitos^{10,23,27}. Proteínas da ECM, como a elastina e o colagénio, têm o *turnover* aumentado nos vasos patológicos e apresentam-se como potenciais alvos para a deteção de alterações subclínicas ou avançadas na DCV. Além destes, recetores de fator de crescimento e de citocinas pro-angiogénicas, moléculas envolvidas na atividade inflamatória pro-angiogénica e atividade proteolítica da matriz necessária para a remodelagem vascular dos grandes vasos têm sido alvos da imagiologia molecular para a visualização dos processos subjacentes à angiogénese²⁷. Desta forma, facilmente se percebe que a angiogénese e a resposta inflamatória coexistem com frequência e podem mediar a progressão mais rápida da placa. O crescimento da placa é então devido à acumulação de sangue e compostos lipídicos presentes nos eritrócitos, assim como células inflamatórias. Contudo, não é

proporcional ao estreitamento do lúmen arterial, que só é notado quando o volume da placa atinge 40% do lúmen²⁸.

8 - Patogénese da placa aterosclerótica instável

A maioria dos eventos agudos, nomeadamente SCA ou AVC, são resultado de trombose luminal. Ao contrário do que se poderia pensar, a maioria dos EAM estão relacionados com lesões arteriais sem estenose significativa⁷. Estes eventos podem ocorrer por três mecanismos diferentes: rutura de placa, erosão de placa e calcificação com proporção de 55 a 60%, 30 a 35% e 2 a 7%, respetivamente^{24,28}.

8.1 - Rutura de placa

A rutura ocorre geralmente numa placa constituída por um núcleo necrótico com alto conteúdo lipídico e uma fina cápsula fibrosa (<65µm) sobreposta que, ao ser danificada leva a trombose luminal devido ao contacto de plaquetas com o núcleo necrótico altamente trombogénico^{2,10,28}. Um fibroateroma de cápsula fina (thin cap fibroatheroma - TCFA) infiltrado por macrófagos é a lesão precursora desta rutura. O TCFA difere da placa em rutura por ter um núcleo necrótico mais pequeno, menor infiltração de macrófagos na cápsula, calcificação, macrófagos ligados a hemossiderina, *vasa vasorum* e fendas de cristais de

colesterol. Comparativamente à erosão e à placa estável, a rutura de placa evidencia, ainda, aumento dos *vasa vasorum*²⁸.

8.2 - Erosão de placa

Uma área desprovida de endotélio é propícia à formação de trombos. As lesões caracterizadas por erosão são, geralmente, excêntricas, têm poucos ou nenhuns macrófagos ou linfócitos e são pouco calcificadas. A tendência para embolizar é mais frequente do que as placas em rutura (74% vs 40%, respetivamente). Os fatores de risco que tem sido consistentemente associados a este fenómeno são o tabagismo e mulheres com idade inferior a 50 anos²⁸. Em média, os doentes são mais jovens e apresentam menor estreitamento luminal quando comparados com a rutura de placa^{20, 28}.

8.3 - Calcificação

A calcificação é o fenómeno menos frequente na patologia trombótica. Consiste numa área calcificada envolvida por fibrose com o núcleo necrótico presente ou ausente. A região luminal da placa revela a presença de uma base calcificada, formação óssea e fibrina intercalada e uma cápsula fibrosa irregular com um trombo sobreposto. É também comum a presença de osteoblastos, osteoclastos e células inflamatórias. A trombose devida a

fenómenos de calcificação é mais comum em homens idosos do que em mulheres e nas artérias carótidas em comparação com as coronárias²⁸.

9 - Imagiologia Molecular – técnicas de Medicina Nuclear

9.1 - Definição

A imagiologia molecular engloba um conjunto de técnicas que podem ser utilizadas na caracterização e medição *in vivo* de processos biológicos a nível celular e molecular^{5,29}. São exemplo desses processos a expressão génica, a síntese proteica, a atividade metabólica ou a atividade enzimática. A técnica baseia-se na administração de um radiofármaco que se liga a, ou é ativado especificamente por uma molécula ou classe de moléculas presentes nos tecidos de um órgão alvo²⁷. A imagiologia molecular difere da imagiologia convencional ao analisar as anomalias moleculares da doença, em detrimento de análise estrutural/anatómica isolada. Uma vez que as alterações moleculares precedem as alterações anatómicas, o desenvolvimento destas técnicas pode ter repercussões importantes para o diagnóstico precoce de várias patologias.

A imagiologia molecular pode ter aplicações a diversos níveis. Na investigação clínica e pré-clínica tem grande potencial para desvendar a fisiopatologia de várias doenças e avaliar e otimizar a eficácia das terapêuticas; na prática clínica pode permitir o diagnóstico mais precoce, monitorizar a progressão da doença e a resposta biológica à terapêutica²⁷. Nos últimos anos, os avanços na área da imagiologia molecular em Cardiologia têm permitido a aquisição de novos conhecimentos sobre a sua fisiopatologia⁵. A nível da placa aterosclerótica

vulnerável, a imagiologia molecular revela dados sobre a acumulação de células inflamatórias, ativação endotelial, proteólise, angiogênese, hipóxia, apoptose e calcificação^{19,24}.

9.2 – SPECT e PET aplicadas à imagiologia molecular

Na área das técnicas de medicina nuclear aplicadas à imagiologia molecular destacam-se duas grandes técnicas, a SPECT e a PET. Estas técnicas apresentam alta sensibilidade embora as resoluções espacial e temporal sejam baixas^{7,27}. Comparativamente com a SPECT, a PET exibe maior resolução espacial e definição de imagem³⁰. Recentemente, a utilização de sistemas híbridos com TC tem permitido aumentar a resolução espacial e localizar de forma mais precisa o radionuclídeo nas estruturas anatómicas⁷. A SPECT/TC e, sobretudo, a PET/TC têm sido utilizadas para detetar, localizar e quantificar a presença de placas ateroscleróticas nas artérias carótidas, aorta e coronárias²¹.

Neste documento será feita uma revisão da literatura existente na área das técnicas de medicina nuclear aplicadas à imagiologia molecular e seus potenciais benefícios na deteção de placas ateroscleróticas instáveis e prevenção de SCA e AVC, bem como na monitorização da eficácia de terapêuticas específicas.

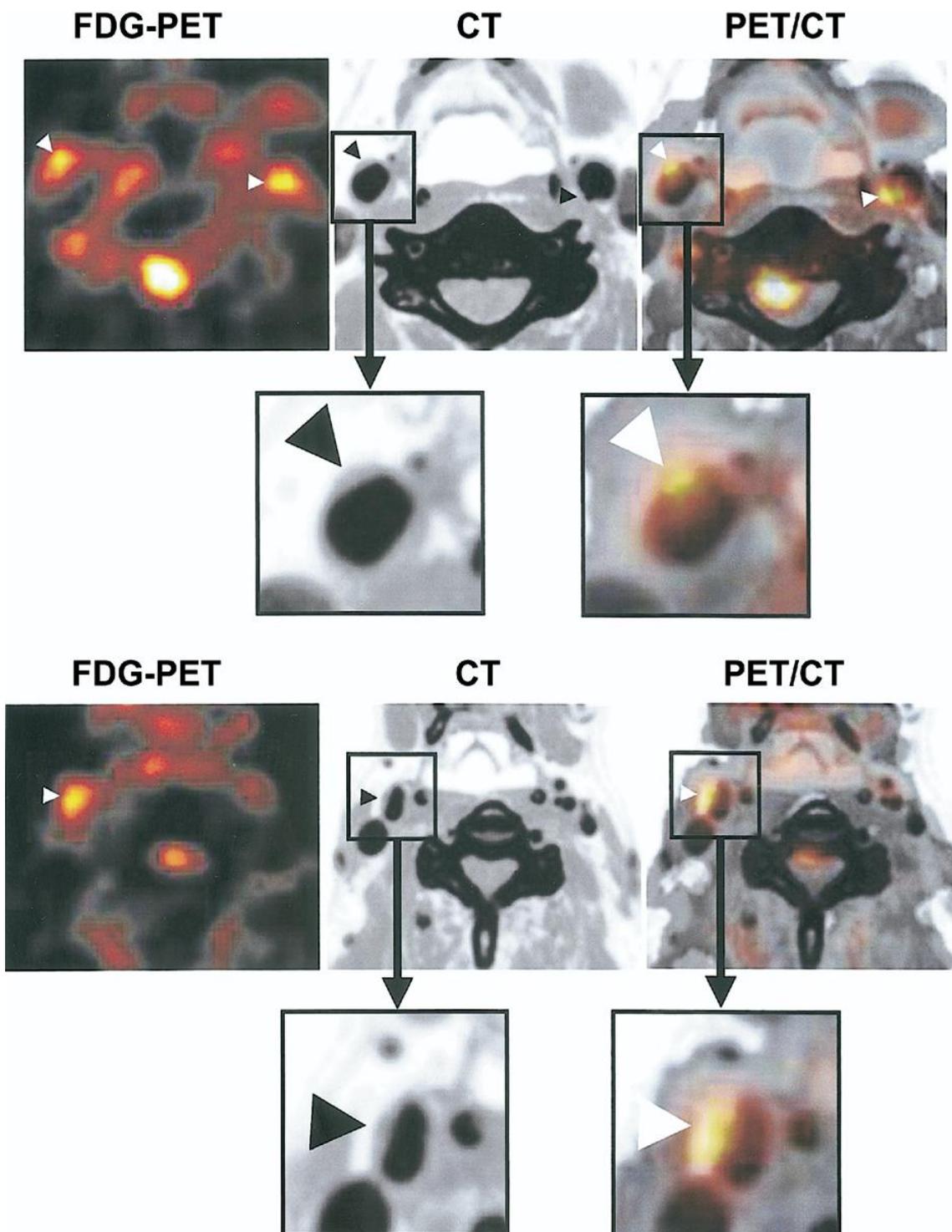


Figura 1: imagem transaxial de Tomografia por Emissão de Positrões com ^{18}F -FDG (esquerda), Tomografia Computorizada (centro) e fusão de ambas (direita), mostrando captação carotídea (setas). Esta última apresenta clara vantagem na localização do aumento da captação³¹.

10 - Aquisição de imagem por SPECT e PET

As técnicas de medicina nuclear aplicadas à imagiologia molecular na doença aterosclerótica baseiam-se na detecção de processos específicos e ativos na iniciação e progressão da doença.

A captação de imagem por SPECT envolve a administração inicial de um radiofármaco emissor de fótons gama. Essa radiação é captada por um sistema de detecção, a câmara gama, constituído por um colimador (filtra os raios que vão atingir o cristal), um cristal (recetor da radiação que passa no colimador) e fotomultiplicadores (ampliam o sinal recebido). O sinal é depois enviado por um circuito a um sistema informatizado que gera a imagem final com recurso a programas de reconstrução de imagem. A câmara gama roda em volta do doente (180 ou 360 graus) e adquire múltiplas imagens bidimensionais que após reconstrução formam imagens tridimensionais³¹.

A captação de imagem por PET envolve a captação de radiação gama após decaimento radioativo de um radiofármaco previamente administrado quando alcança um tecido específico. O decaimento beta+ consiste na emissão de um positrão (partícula nuclear) que colide com um eletrão orbital gerando dois fótons gama em sentidos opostos cuja direção e comprimento de onda podem ser convertidos na posição, direção e energia do positrão que os originou. À semelhança do SPECT é utilizada uma câmara gama em redor do doente que, associada a um sistema informático, permite reconstruir imagens tridimensionais³².

11 - Alvos da Imagiologia molecular

A acumulação vascular de lípidos oxidados é um evento fundamental na aterogénese que estimula a resposta inflamatória, pelo que o desenvolvimento de radiofármacos que se liguem aos epítomos dos lípidos e das lipoproteínas envolvidas pode refletir a atividade inflamatória subjacente²⁷. A expressão de moléculas de adesão celular, como as selectinas, VCAM-1 e ICAM-1, em regiões vulneráveis da placa pode permitir determinar o grau de atividade inflamatória intra-mural devido à sua função na fisiopatologia da aterosclerose^{19,23,27}. Uma outra abordagem possível é a utilização de sondas que se liguem a marcadores na superfície dos monócitos e macrófagos, permitindo a leitura do grau de atividade inflamatória, ou a recetores das LDL ou recetores *scavenger* encontrados nos macrófagos e células endoteliais como o recetor da LDL oxidado (LOX-1), que demonstrou, em animais, através de SPECT, diferenciar placas com conteúdo fibrótico ou inflamatório^{19,23,27}. A deteção de proteases derivadas de macrófagos ativados e CMLs como MMP, catepsinas, mieloperoxidase e outras proteinases reveste-se de particular interesse devido à sua importância previamente mencionada^{23,27}.

A necrose e a apoptose são fatores indutores de vulnerabilidade da placa pelo que a deteção *in vivo* de apoptose pode permitir localizar placas instáveis⁷. Neste sentido, a utilização de anexinas radiomarcadas para deteção de apoptose mostrou correlacionar-se com a atividade proteolítica da placa aterosclerótica²³. Mais recentemente estudos com a enzima mieloperoxidase revelaram aumento dos seus níveis em doentes vítimas de AVC ou SCA, o que pode ser explicado pela evidência recente de que a mieloperoxidase pode ser responsável pela disrupção da cápsula fibrosa devido à produção de ácido hipocloroso, que modifica as LDL, ativa as metaloproteinases da matriz, induz a apoptose das células endoteliais, inativa o óxido nítrico e estimula a libertação de fator tecidual^{10,23,28}.

Os recetores de plaquetas (glicoproteína IIb/IIIa, P-selectina, glicoproteína 1b α), fibrina, factor tecidual e fator de von Willebrand podem fornecer informação sobre ambiente protrombótico e microtrombose^{23,27}. A fibrina representa um alvo molecular clinicamente relevante, pois está presente nos trombos arteriais, na placa aterosclerótica e nos núcleos necróticos das placas avançadas¹⁰. A proteína integrina $\alpha_v\beta_3$ é altamente expressa pelas células endoteliais dos neovasos, macrófagos e CMLs. Como tal permite não só visualização de angiogénese mas também de acumulação de macrófagos nas placas vulneráveis³³.

A microcalcificação, como foi referido, está associada a instabilidade da placa, pelo que a sua deteção se reveste de interesse clínico. Nesse sentido, a utilização de PET/TC com ¹⁸F-NaF tem demonstrado potencial na sua identificação²⁵.

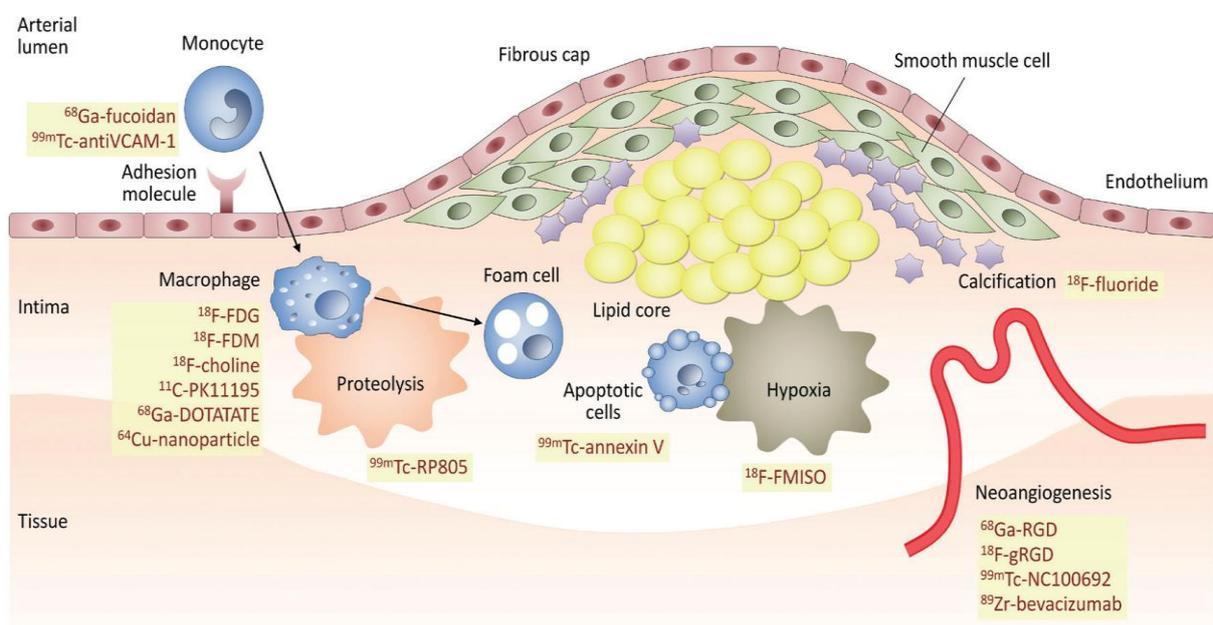


Figura 2: Mecanismo patogénico e alvos da imagiologia molecular na placa vulnerável¹⁹.

12 - SPECT - radiofármacos e suas aplicações

A utilização de SPECT com iodo 123 e iodo 125 (^{123}I e ^{125}I) que se liga à região catalítica ativa das MMP mostrou expressão aumentada destas em placas ateroscleróticas instáveis⁷. No entanto, a aplicação clínica deste achado requer ainda estudos prospectivos. O tecnécio 99m ($^{99\text{m}}\text{Tc-RP805}$) tem também sido utilizado para a detecção de MMP, além de catepsinas, expressas pelos macrófagos das placas, células endoteliais e CMLs que degradam proteínas da ECM levando à instabilização da placa^{19,23}. Os macrófagos ativos expressam recetor β de folatos, para o qual foi criado o radiofármaco $^{111}\text{In-ECO800}$ que demonstrou, com recurso a SPECT/TC, eficácia na detecção de placas vulneráveis em estudos experimentais com ratos¹⁹. Um estudo com recurso a SPECT mostrou que a anexina A5 marcada com tecnécio 99m detetou apoptose na placa aterosclerótica *in vivo* nas artérias coronárias e o uso de TC incorporado permitiu aumentar a especificidade e o valor preditivo positivo⁷. A detecção de angiogénese pós-EAM tem sido conseguida, em alguns estudos experimentais com ratos, através de radiofármacos que se ligam à integrina $\alpha_v\beta_3$ e ao fator de crescimento vascular endotelial, como o índio 111 e $^{99\text{m}}\text{Tc-RAFT-RGD}$ ^{5,24}. No entanto, a maioria dos estudos clínicos com SPECT são realizados nas artérias carótidas para detecção de atividade inflamatória. Apesar de alguns resultados promissores a importância da SPECT no estudo da placa vulnerável é suplantada pela PET, devido à menor resolução espacial da primeira, que dificulta a visualização das artérias e suas lesões⁷.

13 - PET – radiofármacos e suas aplicações

13.1 - PET - detecção de angiogénese

Além da SPECT, também a PET tem permitido a detecção de angiogénese pós-EAM em alguns estudos experimentais com ratos. Os radiofármacos implicados são o ^{18}F -Galacto-RGD, ^{18}F -Fluciclatide, ^{64}Cu -DOTA-VEGF₁₂₁ e ^{89}Zr -bevacizumab^{5,24}. O $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -NC100692 mostrou elevada captação nas artérias carótidas ateroscleróticas em modelos animais^{19,23}. Outros radiofármacos utilizados, como ^{18}F -Flotegatide e ^{18}F -galactoRDG mostraram também, com recurso a PET e em modelos animais, captação significativa em placas ateroscleróticas, sobretudo nas carótidas^{19,24,33}. Um estudo mostrou que a captação de ^{18}F -Flotegatide está fortemente associada ao aumento da densidade de macrófagos, o que é explicado pela sua ligação à integrina $\alpha_v\beta_3$, sem contudo refletir necessariamente aumento na neovascularização. No entanto, a síntese de ^{18}F -galactoRDG é morosa, o que dificulta a sua aplicação clínica³³. Os resultados promissores destes radiofármacos na detecção da angiogénese pós-EAM devem agora ser estudados quanto à possibilidade de transposição para a detecção de angiogénese e atividade inflamatória na placa aterosclerótica.

13.2 - PET - recetores de superfície de macrófagos e apoptose

O recetor da manose é expresso na superfície de macrófagos ativos, embora os resultados conseguidos com recurso ao ^{18}F -fluoro-D-manose sejam ainda pouco esclarecedores quanto à eficácia da sua aplicação clínica¹⁹. O ^{18}F -fluoro-D-manose liga-se a recetores da manose presentes nos macrófagos de fenótipo M2, comumente associados a

características de alto risco, a neovascularização e a hemorragia, pelo que a sua expressão neste recetores em conjunto com o metabolismo da glicose na placa pode permitir a quantificação e caracterização da atividade inflamatória²⁴. Outros recetores de superfície dos macrófagos, como LOX-1 e os recetores da somatostatina (SST), foram também testados através de ¹¹¹In-lipossoma-LOX-1 Ac e ⁶⁸Ga-DOTATATE, respetivamente, sendo este último já usado em humanos para a deteção de tumores neuroendócrinos e um alvo promissor na área da Cardiologia como será abordado posteriormente¹⁹.

Um recente e promissor agente usado na PET, o ¹¹C-PK11195, liga-se ao translocador de proteínas (TSPO) expresso na superfície macrófagos ativos e parece ter um papel importante na deteção de atividade inflamatória^{5,7,19,24}. Num estudo realizado com recurso a PET/TC em doentes com estenose carotídea superior a 50%, a deteção deste agente foi superior nos que tinham sofrido um evento isquémico neurológico agudo recente, em comparação com os assintomáticos. Esses doentes também exibiam menor densidade de placa na TC, que se associa a maior conteúdo lipídico e lesões de alto risco⁵. No entanto, uma limitação importante reside no facto de o miocárdio normal expressar TSPO, sendo a sua deteção nas artérias coronárias dificultada¹⁹. Estes resultados, embora promissores, estão ainda numa fase inicial e não elucidam quanto à sua aplicação nas artérias coronárias e capacidade de prever a progressão da placa carotídea e eventos agudos em indivíduos assintomáticos.

Os recetores da somatostatina subtipo 2, proteína sobre-expressa em macrófagos ativados e células endoteliais danificadas, têm sido marcados com ⁶⁸Ga-DOTATATE em estudos com PET/TC³⁴. Num estudo recente, foi verificada correlação significativa entre a captação do radiofármaco e a presença de placas calcificadas na artéria descendente anterior em todos os doentes, além de uma captação ainda mais intensa em casos de doentes com eventos cardiovasculares prévios²¹. Um estudo de maiores dimensões acerca da captação de

^{68}Ga -DOTATATE nas artérias coronárias mostrou que esta era superior nas placas fibróticas e nos indivíduos com fatores de risco cardiovasculares associados³⁵. Foi também demonstrada uma relação entre os recetores da somatostatina subtipo 2 e a angiogénese que tem sido descrita no contexto de placas instáveis³⁵. Outro estudo, realizado em artérias de maior calibre com o intuito de comparar o ^{68}Ga -DOTATATE e o ^{18}F -FDG na avaliação da atividade inflamatória associada à aterosclerose, calcificação e fatores de risco cardiovascular, revelou os seguintes resultados: a captação de ^{68}Ga -DOTATATE teve correlação superior com a presença de calcificação nas placas quando comparado com a captação de ^{18}F -FDG em placas de composição semelhante; houve associação forte entre a captação de ^{68}Ga -DOTATATE e a presença de fatores de risco cardiovasculares. Estes resultados mostram que este radiofármaco pode também ser útil na avaliação de artérias maior calibre, como as carótidas. No entanto, serão necessários mais dados para o colocar como possível alternativa a radiofármacos como o ^{18}F -FDG^{21,34}.

Os radiofármacos ^{18}F -fluorometilcolina e ^{11}C -colina têm sido investigados na deteção de placas ateroscleróticas e atividade inflamatória. São responsáveis pela marcação de transportadores de colinas e sua incorporação na membrana celular. Estes radiofármacos marcam macrófagos ativados que, como referido anteriormente, estão envolvidos na fisiopatologia da aterosclerose³⁵. Dados recentes mostraram que, com recurso a PET/TC, estes radiofármacos identificaram várias lesões ateroscleróticas em animais e humanos, nas artérias carótidas comuns e aorta^{21,35}. Contudo, os dados sobre a sua aplicação clínica em humanos são ainda pouco consistentes³⁵.

A apoptose é outro marcador de vulnerabilidade da placa e incentivou o estudo de radiofármacos que identifiquem placas vulneráveis, dos quais se destacam o ^{18}F -Fluoromisonidazol e o $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -anexina V por mostrarem elevada captação nas mesmas³⁵.

Processo alvo	Alvo imagiológico	Radiofármaco	Objeto de estudo	Artéria alvo	Exame de imagem
Disfunção endothelial	Selectina P	⁶⁴ Cu-anti P- selectina Ac	MA	Aorta	PET
		⁶⁸ Ga-fuoidina	MA	Aorta	PET
	VCAM-1	^{99m} Tc- cAbVCAM1-5	MA	Aorta	SPECT
Resposta Inflamatória	Metabolismo da glucose	¹⁸ F-FDG	Hu	Carótidas	PET
	Recetor IL-2	^{99m} Tc-HYNIC-IL-2	Hu-T	Carótidas	SPECT
	Recetor quimiocinas	⁶⁴ Cu-DOTA- ν MIP- II	MA	Femoral	PET
		⁶⁴ Cu-DOTA- DAPTA	MA	Femoral	PET
	Recetor floats	¹¹¹ In-ECO800	MA	Carótidas	SPECT
	Recetor floats	^{99m} Tc-folato	Hu-T	Carótidas	SPECT
	Recetor manose	¹⁸ F-fluoro-D- manose	MA/ Hu-T	Carótidas	PET
	LOX-1	¹¹¹ In-lipossoma- LOX-1 Ac	MA	Aorta	PET
	Recetor SST	⁶⁸ Ga-DOTATATE	Hu	Aorta/ coronárias	PET
	TSPO	¹¹ C-PK11195	Hu	Aorta/ coronárias	PET

				carótidas	
	Metabolismo das Colinas	$^{18}\text{F}/^{11}\text{C}$ -colina	Hu	Aorta/ carótidas	PET
	Fagocitose	^{64}Cu -nanopartículas	MA	Aorta	PET
Proteólise	MMP	$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -RP805	MA	Aorta/ Carótidas	SPECT
Angiogénese	Integrina	$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -NC100692	MA	Carótidas	SPECT
		^{68}Ga -NOTA-RGD	MA/Hu	Aorta/ carótidas	PET
		^{18}F -Flotegatide	MA	Aorta	PET
		^{18}F -galactoRDG	Hu	Carótidas	PET
	Recetor VEGF	^{89}Zr -bevacizumab	Hu	Carótidas	PET
Hipóxia	Macromoléculas (célula hipoxica)	^{18}F - Fluoromisonidazol	MA	Aorta	PET
Calcificação	Cristais de hidroxiapatite	^{18}F -fluoreto	Hu	Coronárias	PET
<p>Ac=anticorpo, MA=modelo animal, Hu=humano, Hu-T=tecidos humanos, SST=somatostatina, TSPO=translocador de proteínas, VEGF=fator de crescimento do endotélio vascular</p>					

Tabela 1: Principais alvos imagiológicos e radiofármacos utilizados atualmente e respetivos locais arteriais de aplicação. Adaptado de: Lee SJ, Paeng JC. Nuclear molecular imaging for vulnerable atherosclerotic plaques. Korean J Radiol. 2015;16(5):955–66

14 - PET e ^{18}F -FDG

O ^{18}F -FDG é um análogo da glicose e atualmente um dos radiofármacos mais utilizados na prática clínica, apresentando uma semi-vida de 110 minutos³⁶. A sua aplicação tem sido conseguida nas artérias carótidas, coronárias, aorta, femorais, ilíacas e poplíteas²¹. O ^{18}F -FDG acumula-se proporcionalmente à atividade metabólica nas células que usam a via glicolítica, um processo muito comum no metabolismo dos macrófagos, pelo que a captação deste radiofármaco pode revelar atividade inflamatória da placa aterosclerótica mediada por estas células^{7,19,21,24}. O exame histológico de placas em rutura demonstrou abundância de macrófagos, o que reforça a importância do ^{18}F -FDG para a sua deteção²⁴. Outros fatores, como a densidade de *vasa vasorum* na placa aterosclerótica podem influenciar a captação de ^{18}F -FDG uma vez que esta também é dependente do fluxo sanguíneo³⁶. Dados recentes também indicaram que a acumulação de ^{18}F -FDG reflete o grau de hipóxia na placa, uma vez que esta estimula o metabolismo glicolítico em detrimento do oxidativo^{5,24,37}.

Algumas condições são importantes para permitir a sua correta aplicação: o peso do indivíduo (essencial para ajustar a dose); o tempo de circulação no corpo, que deve ser de 2 a 3 horas; e um nível de glicose inferior a 126 mg/dl prévio à deteção da imagem²¹.

14.1 - ^{18}F -FDG e artérias carótidas

Estudos de expressão génica em placas carotídeas mostraram associação entre captação de ^{18}F -FDG e presença de marcadores de instabilidade da placa como CD68, transportador de glicose I, catepsina K, proteína c-reativa (PCR) e MMP 1, 3 e 9^{24,38}. Um estudo recente

realizado em indivíduos com estenose carotídea significativa mostrou correlação entre a captação de ^{18}F -FDG e níveis circulantes elevados de MMP-1, enquanto que outro mostrou que a captação do radiofármaco e o nível de PCR não eram concordantes, embora ambos estejam implicados na patogênese da aterosclerose^{21,38}. No entanto, os níveis séricos de PCR podem indicar progressão da aterosclerose a nível carotídeo³⁹. A utilização clínica destes biomarcadores deve, contudo, ser cautelosa uma vez que estes podem refletir a atividade inflamatória na corrente sanguínea e não na parede arterial³⁸.

As características morfológicas de alto-risco da placa subjacentes à sua rutura, como atividade inflamatória, remodelagem vascular, ulceração e núcleo necrótico lipídico foram analisadas por TC e comparadas com a captação de ^{18}F -FDG num estudo realizado nas artérias carótidas, que revelou aumento da captação concomitante com o número de características de alto risco presentes^{5,40}. Um outro estudo realizado nas artérias carótidas, com o intuito de comparar as características morfológicas da placa (por TC) com a atividade inflamatória da mesma (por PET e confirmada por histologia) mostrou que as duas estão relacionadas: foi observado maior grau de atividade inflamatória (medida por captação de ^{18}F -FDG) nos segmentos vasculares contendo placas ateroscleróticas do que naqueles sem placas; a atividade inflamatória foi também superior nas placas com características morfológicas de alto risco e aumentou com o número observado dessas características o que mostra a sua relação com a resposta inflamatória. Nas placas densamente calcificadas, a captação de ^{18}F -FDG mostrou-se reduzida, assim como o número de macrófagos, o que sugere menor atividade inflamatória⁴⁰.

Num estudo realizado nas artérias carótidas de indivíduos com doença cerebrovascular foi observado aumento de 27% da captação de ^{18}F -FDG em placas ateroscleróticas ipsilaterais a um evento neurológico quando comparadas com a artéria contra-lateral²⁴. Este estudo foi

corroborado por um similar que mostrou associação entre a captação de ^{18}F -FDG e história recente de eventos cerebrovasculares agudos⁴⁰.

Estes estudos levantam boas perspectivas na aplicação deste radiofármaco na detecção de placas ateroscleróticas instáveis, pela sua correlação com características morfológicas de alto risco e biomarcadores inflamatórios. No entanto, estudos adicionais serão necessários no sentido de avaliar a aplicação clínica correta destas correlações.

14.2 - ^{18}F -FDG e artérias coronárias

Dados recentes mostraram elevada captação de ^{18}F -FDG em placas responsáveis por SCA³⁰. Num estudo realizado com recurso a PET na artéria coronária esquerda proximal, foi reportada elevada acumulação de ^{18}F -FDG em locais com presença de placas ateroscleróticas em comparação com o restante leito arterial⁷. A calcificação coronária é considerada um fator de risco para eventos coronários¹⁹. Um estudo retrospectivo mostrou concordância de 55% entre a captação de ^{18}F -FDG e a calcificação nas artérias coronárias e de 77% entre a captação e a história de DCI⁷. No entanto, a calcificação detetada por TC nem sempre mostrou correlação com a captação de ^{18}F -FDG, provavelmente por esta captação refletir a presença de atividade metabólica, o que não acontece na deteção por TC. Embora as potencialidades de ^{18}F -FDG já tenham sido validadas em artérias como as carótidas, femorais, ilíacas e aorta, a sua aplicação nas artérias coronárias tem-se revelado menos bem sucedida devido à atividade glicolítica do miocárdio, que capta ^{18}F -FDG obscurecendo o sinal de estruturas adjacentes^{24,26}. Dietas com alto conteúdo em lípidos e baixo em hidratos de carbono, de forma a dirigir o metabolismo dos macrófagos para o consumo de ácidos gordos, têm sido testadas

com o intuito de atenuar a captação miocárdica mas com pouca eficácia^{21,24}. Outro método de atenuação utilizado é o jejum para todo o tipo de alimentos e manutenção apenas de fluidos durante 6 a 12 horas antes da administração de ^{18}F -FDG⁴¹. A supressão de captação conseguida varia de 57 a 84% não se mostrando uniforme nos diferentes doentes⁴². Contudo, estes métodos de atenuação têm permitido a deteção de ^{18}F -FDG, sobretudo na artéria coronária esquerda proximal⁶.

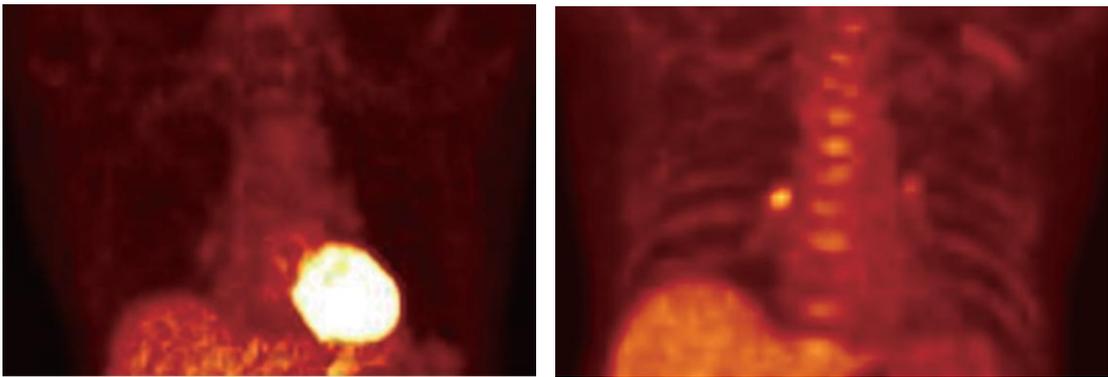


Figura 2: Variação da captação de ^{18}F -FDG no coração. A utilização de um protocolo de jejum de 6h não impediu, num caso, a supressão da captação miocárdica (esquerda) e provocou a supressão completa noutra (direita)¹⁹.

O ^{18}F -FDG é útil como marcador de atividade inflamatória vascular, no entanto os processos metabólicos subjacentes à rutura eminente da placa aterosclerótica envolvem o recrutamento de vários tipos de células em resposta a diferentes tipos de estímulos que podem não ser adequadamente distinguidos com o uso do ^{18}F -FDG na PET⁴¹. Além disso, como referido anteriormente a natureza não específica deste radiofármaco pode afetar a deteção das placas ateroscleróticas e da atividade inflamatória devido à captação extra placa. Dessa forma, radiofármacos mais específicos para deteção de placas ateroscleróticas de alto risco devem ser

investigados, sobretudo a nível das coronárias, de forma a potenciar as capacidades diagnósticas e prognósticas desta técnica imagiológica^{21,41}.

14.3 - ¹⁸F-FDG e artéria aorta

A utilização de ¹⁸F-FDG tem sido investigado em várias patologias localizadas na aorta. Fenómenos como disseção e aneurismas da aorta são atualmente alvo de interesse pela comunidade científica.

A captação deste radiofármaco mostrou correlacionar-se com a calcificação e resposta inflamatória na parede vascular aórtica, à semelhança do que acontece nos leitos arteriais previamente referidos⁴³.

Num estudo realizado com PET/TC na artéria aorta de doentes com disseção aórtica aguda e crónica estável foi observado que a captação de ¹⁸F-FDG era superior nos doentes com disseção aórtica crónica estável. Estes resultados sugerem que a PET/TC com ¹⁸F-FDG pode ser útil na diferenciação entre apresentação aguda e crónica. No entanto, estudos adicionais são necessários para comprovar estes resultados preliminares⁴⁴.

Estudos com recurso a PET/TC têm evidenciado correlação positiva entre a captação de ¹⁸F-FDG, atividade inflamatória e aumento da PCR circulante em aneurismas da aorta abdominal. Estes fenómenos podem ser responsáveis pelo enfraquecimento da parede arterial e predispor a rutura do aneurisma. A PET/TC mostra, desta forma, um potencial importante na deteção destes fenómenos agudos, embora seja ainda necessária investigação adicional⁴⁵.

15 - PET e ^{18}F -NaF

Atualmente, a calcificação na aterosclerose é relatada como uma resposta cicatricial ao potente estímulo inflamatório do núcleo lipídico necrótico²⁴. A existência de cálcio a nível da parede arterial é, no caso das coronárias, patognomónico de aterosclerose e um preditor de eventos agudos sem, no entanto, ser capaz de identificar lesões vulneráveis de alto risco diretamente^{24,25}. O radiofármaco ^{18}F -NaF é um biomarcador de cristais de hidroxiapatite que é um componente estrutural da calcificação vascular e o seu grau de captação está relacionado com a área de superfície ocupada pelos cristais^{24,26,41}. Estudos realizados com ^{18}F -NaF mostraram que este se liga em maior número aos microcristais (característicos dos estadios iniciais da calcificação vascular), que são finos e longos, o que resulta numa grande área de superfície disponível para a sua ligação^{24,25,41}. Uma observação interessante foi a de que o ^{18}F -NaF se correlacionou com o grau de calcificação devida à aterosclerose detetada por TC, embora nem todas as calcificações identificadas na TC, correspondentes a macrocalcificação tenham demonstrado captação deste radiofármaco na PET⁵.

Placas ateroscleróticas carotídeas seccionadas com captação de ^{18}F -NaF aumentada tinham maior grau de calcificação e atividade inflamatória ao exame histológico, sugeridas pela infiltração de macrófagos, necrose e apoptose de células sugerindo um forte potencial deste radiofármaco para a deteção de placas ateroscleróticas instáveis²⁴.

15.1 - ^{18}F -NaF nas coronárias

A aplicação de ^{18}F -NaF na caracterização de patologia aterosclerótica a nível das artérias coronárias tem sido alvo de atenção crescente pela comunidade científica. Um estudo recente sobre a sua aplicação nas artérias coronárias mostrou resultados importantes: a sua deteção mostrou não ser afetada pela captação miocárdica; a sua captação foi superior em pacientes com DCI e pequenas áreas correspondentes a placas ateroscleróticas foram corretamente identificadas; o aumento da captação teve correlação positiva com história de eventos cardiovasculares adversos²⁴. A captação negligenciável pelo miocárdio permite que este radiofármaco seja capaz de determinar a atividade osteogénica coronária^{5,6}. Um outro estudo, realizado em doentes com EAM recente, pretendeu estabelecer a relação entre a captação de ^{18}F -NaF e a localização de placas em rutura responsáveis pelos eventos agudos e mostrou que em cerca de 93% dos casos o sinal de ^{18}F -NaF detetado localizou a placa culpável²⁴. Estes estudos mostram que placas instáveis ou em rutura em doentes com DCI sintomática têm captação focal aumentada do radiofármaco. O ^{18}F -NaF usado na PET/TC representa assim o primeiro método de imagem não-invasivo a identificar e localizar placas coronárias em rutura ou de alto-risco^{6,7}.

Embora a observação de que a captação por ^{18}F -NaF se associe a placas em rutura responsáveis por eventos agudos seja bastante promissora, a capacidade deste radiofármaco identificar as lesões prospetivamente antes de estas causarem eventos clínicos permanece em aberto. Nesse sentido, foi examinada a captação de ^{18}F -NaF em pacientes de alto risco com DCI estável e verificou-se que placas com maior captação estavam associadas a características de alto risco como microcalcificação, núcleo necrótico de grandes dimensões e remodelagem vascular, enquanto que as placas sem captação mostravam maior grau de fibrose e grandes áreas de calcificação confluyente, características de placas mais estáveis²⁴.

Num estudo realizado com recurso a PET e ^{18}F -NaF mostrou-se que doentes com score de cálcio coronário por TC superior a 1000 não apresentavam atividade deste radiofármaco, sugerindo estado mais avançado de calcificação e maior estabilidade da placa; tal observação levanta dificuldades na compreensão do papel do ^{18}F -NaF na predição de risco, uma vez que scores coronários superiores a 1000 estão associados a maior risco cardiovascular^{5,6}. Atualmente, o ^{18}F -NaF parece ser responsável pela deteção de lesões calcificadas em estádios iniciais com mineralização activa^{5,7}.

A captação de ^{18}F -NaF mostrou estar relacionada com o aumento da concentração da troponina I de alta-sensibilidade, muito sensível para o diagnóstico de EAM, o que sugere maior evidência para o uso potencial deste radiofármaco como marcador de aumento de risco cardiovascular²⁶.

Em suma, a imagiologia molecular com recurso a ^{18}F -NaF surge como uma técnica não-invasiva promissora para a deteção e estratificação do risco de placas ateroscleróticas através da identificação da microcalcificação. São necessários estudos prospetivos para confirmar se essas placas com aumento de captação poderão posteriormente causar eventos cardiovasculares, e ainda se permitem identificar doentes de alto risco que beneficiem de terapêutica médica agressiva. A estratificação do risco, monitorização da progressão da doença e resposta à terapêutica apresentam-se como os objetivos a ser alcançados com a investigação aprofundada das capacidades do ^{18}F -NaF⁴¹. A estes dados acrescenta-se ainda o baixo custo e simplicidade da sua produção, abrindo boas perspetivas para utilização clínica, embora o custo do exame em si seja elevado²⁵.

16 - Comparação entre ^{18}F -FDG e ^{18}F -NaF

Um estudo submeteu 30 doentes com estenose aórtica a PET/TC marcada com ^{18}F -NaF e ^{18}F -FDG no sentido de avaliar o potencial na predição da evolução da doença. Em 12 doentes foi realizada cirurgia de substituição valvular e a captação dos radiofármacos foi comparada com a atividade inflamatória e calcificação observadas na análise imuno-histoquímica da válvula excisada. Nos restantes 18 doentes o score de cálcio da válvula aórtica foi avaliado por duas vezes, no início do estudo e um ano depois e comparado com a captação dos radiofármacos. Após a avaliação imuno-histoquímica, foi verificado que a calcificação se correlacionou com a captação de ^{18}F -NaF ao contrário do que aconteceu com o ^{18}F -FDG. Após um ano, verificou-se aumento da calcificação da válvula avaliada pelo score de cálcio acompanhado por alteração proporcional na captação de ^{18}F -NaF e ausência de correlação significativa na alteração da captação de ^{18}F -FDG. Este foi um dos primeiros estudos a identificar calcificação ativa dos tecidos através de PET/TC com ^{18}F -NaF e avaliar a sua progressão. Muitos dos estudos subsequentes foram baseados nesta descoberta⁴⁶.

Um ensaio clínico foi realizado com o objetivo de identificar placas ateroscleróticas instáveis ou em rutura. Para tal, 40 doentes com EAM e 40 com angina estável realizaram PET/TC com ^{18}F -NaF e ^{18}F -FDG e angiografia coronária. Os doentes com angina estável foram ainda submetidos a ecografia intravascular. Cerca de 12 doentes com doença cerebrovascular sintomática foram submetidos, além de PET/TC, a endarterectomia carotídea. Verificou-se que 93% dos doentes mostraram captação aumentada de ^{18}F -NaF nas placas responsáveis pelo evento agudo e que a captação de ^{18}F -NaF foi 34% superior do que a atividade máxima registada em qualquer outro local da vasculatura coronária. Contudo, a captação coronária de ^{18}F -FDG foi praticamente indistinguível da captação miocárdica em 22 (52%) doentes e apenas 6 mostraram aumento da captação nos vasos culpáveis pelo evento

agudo^{7,26,43}. Nos doentes submetidos a endarterectomia, a captação de ¹⁸F-NaF foi localizada às placas em rutura em todos os casos. Nos doentes com angina estável, a captação focal de ¹⁸F-NaF foi observada em apenas 45% dos casos, dos quais 72% mostraram estenose luminal <70% na angiografia coronária. Verificou-se também correlação entre a captação do radiofármaco e características de alto risco na ecografia intravascular, como remodelagem vascular e microcalcificação. Este estudo mostrou pela primeira vez que placas de alto risco ou em rutura nas artérias coronárias podiam ser identificadas por métodos não invasivos, com clara vantagem no uso de ¹⁸F-NaF. No entanto, estudos futuros são necessários para perceber se estas técnicas permitirão melhorar o diagnóstico e tratamento dos doentes com DCI^{6,42}.

17 - Aplicações terapêuticas da PET

17.1 - Terapêutica com estatinas

A utilização de estatinas no tratamento da aterosclerose resulta numa marcada diminuição do risco aterotrombótico, acompanhado de uma redução substancial de marcadores inflamatórios⁴⁷. Os efeitos incluem não só a redução de LDL (por inibição da síntese *de novo* de colesterol), mas também de atividade anti-inflamatória e antioxidante. No entanto, a influência das estatinas na atividade inflamatória da placa aterosclerótica não é ainda totalmente compreendida⁴⁸. Atualmente, a PET com ¹⁸F-FDG tem sido utilizada em estudos para avaliar a resposta inflamatória a terapêuticas com diferentes fármacos. As estatinas apresentam-se como o principal grupo de fármacos em investigação dado o seu efeito em eventos cardiovasculares. Nesse sentido, Tahara et al. observaram com recurso a

PET/TC e ^{18}F -FDG redução da captação deste radiofármaco nas artérias carótidas e aorta em doentes tratados com doses baixas de sinvastatina e medidas higieno-dietéticas durante 12 semanas, em comparação com pacientes que seguiram apenas os conselhos dietéticos. Foi também evidente que a sinvastatina reduziu o colesterol LDL (30%) e aumentou a HDL (15%), embora apenas este último tenha mostrado correlação com a diminuição da captação de ^{18}F -FDG, sugerindo que a atenuação da atividade inflamatória da placa por este fármaco pode ser um dos efeitos pleiotrópicos das estatinas independente da redução da LDL⁴⁹.

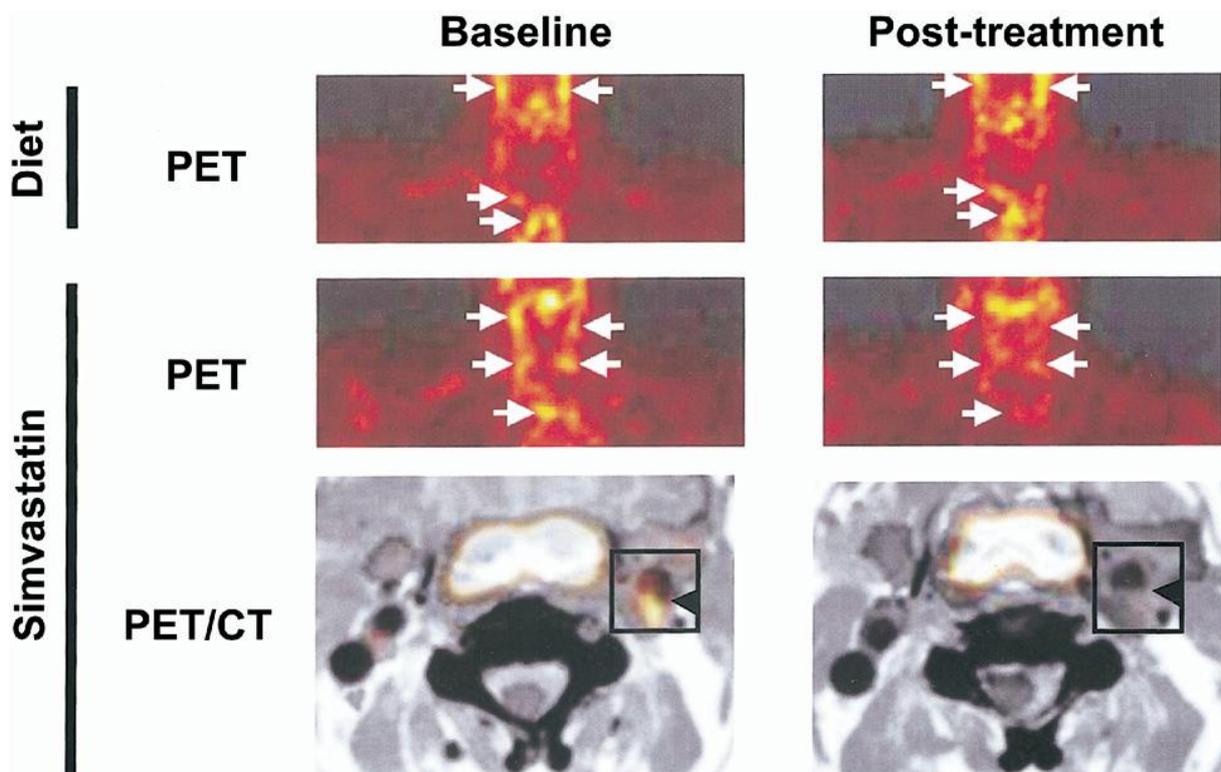


Figura 3: Efeitos da sinvastatina na captação de ^{18}F -FDG e atividade inflamatória da placa aterosclerótica nas carótidas. As imagens representam a terapêutica dietética isolada, no início e término do estudo (topo), sem alteração da captação (setas); terapêutica com sinvastatina (meio), com diminuição da captação após 12 semanas (setas); terapêutica com sinvastatina analisada por PET/TC (baixo) com redução marcada da captação (setas pretas)⁴⁹.

Crisby et al. reportaram, em amostras de artérias carótidas após endarterectomia de pacientes sujeitos a 12 semanas de terapêutica com pravastatina, redução do conteúdo lipídico, LDL, macrófagos e células T em comparação com os pacientes não sujeitos a terapêutica, o que vai ao encontro dos resultados acima mencionados⁵⁰. Estes estudos, embora tenham permitido visualizar redução da atividade inflamatória na placa deixam algumas questões em aberto como o efeito da dose do fármaco na redução da atividade inflamatória e a rapidez dessa redução, uma vez que neste estudo apenas foi avaliada às 12 semanas. No sentido de responder a estas questões um estudo com recurso a PET/TC e ¹⁸F-FDG nas artérias carótidas e aorta consistiu na administração de atorvastatina numa dose baixa (10mg) e numa dose alta (80mg) e medição da captação às 4 e 12 semanas. Foi observada redução significativa da atividade inflamatória às 12 semanas com a alta dose e uma redução mais ligeira com a baixa dose; a medição à quarta semana mostrou redução consistente com a observada no termo do estudo⁴⁷. Estes resultados mostram que há redução rápida (4 semanas) da atividade inflamatória vascular com a terapêutica com estatinas e que essa redução está relacionada com a dose administrada. Esta rápida redução suporta a hipótese de que a atenuação da atividade inflamatória, mais do que a regressão anatómica da placa, tem um papel predominante nos efeitos benéficos iniciais da terapêutica com estatinas. De facto, a regressão da placa pode não ser detetada até meio ano ou, por vezes, alguns anos após início da terapêutica com estatinas⁵⁰. Outra observação interessante foi a de que a captação de ¹⁸F-FDG e a redução de LDL circulante não mostraram correlação significativa no doente individual, o que é concordante com observações anteriores que mostraram correlações modestas entre os biomarcadores inflamatórios e as LDL e sugere que a ação das estatinas na redução da atividade inflamatória vascular possa ser, pelo menos em parte, independente da redução das LDL⁴⁷. Um estudo semelhante na artéria aorta e femoral de doentes com angina estável e dislipidemia sujeitos a terapêutica com 5 ou 20 mg de atorvastatina durante 6 meses

mostrou diminuição da atividade inflamatória com a terapêutica de 20mg mas não com a de 5mg, além de diminuição de biomarcadores de inflamação, como a LDL. Contudo, neste estudo, ao contrário do anterior, foi sugerido que os efeitos da redução da LDL e da redução da atividade inflamatória estão intimamente relacionados. A concentração elevada de PCR no plasma é um preditor independente de risco cardiovascular e a redução da captação de ^{18}F -FDG mostrou estar relacionada com a diminuição da concentração da PCR⁴⁸. Um outro estudo com atorvastatina mostrou que, após 12 semanas de tratamento, não houve diminuição do tecido adiposo abdominal nem da calcificação coronária avançada, indicando que estes parâmetros, que são dois dos mais importantes fatores de risco cardiovascular independentes, podem não responder à terapêutica com estatinas e portanto mostrar menos potencial para monitorização terapêutica. No entanto, como já foi referido a macrocalcificação está associada a placas estáveis pelo que este dado não acarreta preocupação significativa na deteção de eventos agudos, aparentemente. Uma enzima proteolítica importante para a instabilidade da placa, a MMP-9, mostrou redução concordante com a diminuição da captação de ^{18}F -FDG, o que pode ter influência no mecanismo pelo qual a atorvastatina atenua a resposta inflamatória⁵¹. A utilização de PET/TC tem permitido também fazer comparação entre fármacos⁵². Nesse sentido, foi realizado um estudo comparativo entre os efeitos da pitavastatina (lipofílica) e da pravastatina (hidrofílica) na redução da atividade inflamatória da placa aterosclerótica nas artérias carótidas que mostrou maior eficácia da primeira nessa redução, assim como na redução de biomarcadores como as LDL. Este estudo sugere que as estatinas lipofílicas têm um efeito pleiotrópico mais marcado do que as hidrofílicas e, como tal, têm maior potencial para a prevenção ou regressão da aterosclerose⁵³.

17.2 - Outros fármacos em investigação

Diversos estudos em diferentes classes farmacológicas têm sido realizados com PET/TC e ^{18}F -FDG no sentido de avaliar a eficiência deste exame na monitorização e eficácia do tratamento. Por exemplo, um estudo em pacientes com diminuição de tolerância a glicose ou diabetes mellitus sujeitos a 4 meses de tratamento com pioglitazona mostrou maior atenuação da atividade inflamatória da placa quando comparado com a glimepirida, nas artérias carótidas⁵⁴. Resultados semelhantes foram encontrados com o dalcetrapib (inibidor das proteínas transportadoras de ésteres de colesterol), que mostrou redução de 7% das dimensões da placa aos 6 meses de tratamento quando comparado com o grupo placebo⁵⁵.

Estes estudos não deixam, contudo, claro o mecanismo pelo qual estas terapêuticas diminuem o risco cardiovascular nem se a redução da atividade inflamatória se traduz em benefício clínico pelo que serão necessários estudos futuros.

18 - Discussão e conclusão

Hoje em dia, o impacto de novas tecnologias em medicina é medido por fatores bem definidos que influenciam a gestão do doente e da sua doença de que são exemplo a razão custo-benefício, deficiências dos critérios de diagnóstico clínico, desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas, adequada justificação perante tecnologias competitivas, morbidade e efeitos indesejáveis. A imagiologia molecular permite a visualização não invasiva, em tempo real, de eventos que ocorrem a nível molecular pelo que é possível obter a caracterização de estruturas que até agora apenas estudos de peças de autópsia, biópsia ou modelos animais permitiam. Com o advento da SPECT e da PET tem sido aplicada a diversas áreas da medicina, como a Neurologia, Psiquiatria, Oncologia e Cardiologia. Em algumas destas áreas, tem já aplicações clínicas rotineiras⁴¹.

Com relação às patologias neurológicas, algumas alterações degenerativas e psiquiátricas apresentam distúrbios no consumo de glicose cerebral que podem ser visualizados com estudos de PET/CT antes mesmo das alterações morfológicas evidenciadas à ressonância magnética. Assim, podemos afirmar que essas tecnologias podem ser aplicadas no diagnóstico diferencial das demências, incluindo a depressão dos idosos, avaliação das sequelas neuropsiquiátricas após traumatismos encefálicos, diagnóstico diferencial entre doença de Parkinson e tremor benigno/ parkinsonismo induzido por fármacos/ demência por corpos de Lewis e confirmação de morte cerebral, particularmente em casos difíceis, como por exemplo no coma da intoxicação por barbitúricos⁵⁶.

Na Oncologia, a PET tem assumido um papel importante, sobretudo com a incorporação da TC em 2001. As células tumorais malignas consomem maior quantidade de glicose comparativamente aos tecidos normais adjacentes pelo que o uso de ¹⁸F-FDG assume clara vantagem. Auxilia no diagnóstico de neoplasias (diferenciando tumores benignos de malignos), estadiamento, avaliação da resposta terapêutica precoce e tardia, avaliação de

recidiva tumoral e reestadiamento de pacientes oncológicos^{27,57}. O diagnóstico diferencial entre recorrência tumoral intracerebral e necrose pós-irradiação ou pós-cirurgia; entre linfoma do sistema nervoso central e granuloma por toxoplasma ou tuberculoso em doentes com síndrome de imunodeficiência adquirida tem sido também estabelecido. O Programa Nacional de Registro de PET Oncológico dos Estados Unidos da América que documenta o uso de PET e PET/CT no manejo de doentes com cancro mostra que em mais de 1 em cada 3 casos, os resultados das imagens PET/CT levam a alterações de tratamento dos doentes. Em Oncologia, estas aplicações têm demonstrado significativa redução nos custos às entidades provedoras dos seguros de saúde (público e/ou privada), uma vez que deteta alterações moleculares previamente às alterações morfológicas da TC evitando um número excessivo de exames radiológicos, além de reduzir significativamente a dose de radiação aos doentes oncológicos⁵⁷.

A PET e a SPECT têm também aplicação em farmacologia clínica, na descoberta e avaliação de novos fármacos. Estas técnicas podem definir com facilidade a farmacocinética de novos fármacos e demonstrar suas características e seu comportamento farmacodinâmico em grande parte pela capacidade de estudar uma gama muito maior de funções cerebrais, que incluem principalmente a neurotransmissão e os neurorreceptores.

A DCV é uma das principais causas de mortalidade e morbidade, responsável por elevados custos de saúde, com consumo de recursos do serviço de saúde (internamentos, diminuição da produtividade devida a incapacidade temporária ou definitiva), sendo o seu impacto em termos económicos e sociais muito relevante. A doença aterosclerótica está na base de muitos destes fenómenos fatais, devido à instabilidade das placas. Tradicionalmente era apenas detetada em estadios avançados por determinação do grau de estenose do lúmen arterial ou por perfusão miocárdica, facto que tem vindo a alterar-se no passado recente. Enquanto os atuais meios imagiológicos apresentam limitações no diagnóstico de placas

ateroscleróticas instáveis, a imagiologia molecular com SPECT e PET surge como uma alternativa cada vez mais aceita. A sua fusão com TC (SPECT/TC e PET/TC) permitiu a junção de dados funcionais e dados anatómicos num único exame. Há vários radiofármacos disponíveis e a sua investigação encontra-se em constante evolução o que tem permitido aumentar a especificidade da imagiologia molecular da placa aterosclerótica^{19,23,24}.

A imagiologia molecular tem várias aplicações que justificam o seu desenvolvimento. A estratificação de risco cardiovascular surge como uma das principais potencialidades da imagiologia molecular, em razão da detalhada informação molecular que é possível obter, conferindo perspectivas de identificar doentes em alto risco de eventos agudos antes do aparecimento dos sintomas^{5,7}. Apresenta clara vantagem na identificação de características biológicas da doença e compreensão da sua patogénese que pode permitir melhorar a área da investigação e da clínica. A deteção dos processos biológicos subjacentes à progressão, instabilização e rutura de placa podem permitir o diagnóstico precoce, tratamento mais agressivo e dirigido e monitorização da resposta terapêutica¹⁰. Neste âmbito, o ¹⁸F-NaF com a deteção de microcalcificação surge com especial destaque uma vez que é o primeiro método de imagem não-invasivo a identificar e localizar placas coronárias em rutura ou de alto risco^{6,7}. Outros radiofármacos como o ¹⁸F-FDG e, mais recentemente, novos agentes como o ¹¹C-PK11195 ou o ⁶⁸Ga-DOTATATE têm permitido deteção cada vez mais eficiente de atividade inflamatória associada à placa aterosclerótica. A existência de novos radiofármacos com potencial superior ao ¹⁸F-FDG incrementa ainda mais a necessidade de estudos prospetivos com objetivo de otimizar a sua aplicação clínica. A imagiologia molecular com recurso a PET está atualmente a ser testada para avaliar o efeito da terapia com alguns fármacos, maioritariamente estatinas, na atividade inflamatória da placa aterosclerótica. Resultados com utilização de ¹⁸F-FDG mostraram regressão da resposta inflamatória da placa associada a diminuição de marcadores inflamatórios após administração de estatinas. A

evolução da resposta terapêutica durante o tempo de administração dos fármacos foi também passível de ser avaliada^{37,52}. No entanto, são necessários estudos futuros para perceber se a diminuição da atividade inflamatória evidenciada pela PET com ¹⁸F-FDG se traduz numa redução do risco de eventos cardiovasculares. Se esta relação se confirmar, a monitorização da atividade inflamatória da placa com PET assume um papel central na terapêutica da DCV associada à aterosclerose. A relação custo benefício, tão discutida atualmente, pode também ser mais eficiente tanto na investigação como na clínica, prevenindo a ocorrência de eventos adversos ou reduzindo o consumo excessivo de recursos diagnósticos e terapêuticos desnecessários²⁷.

Embora estes métodos de imagem apresentem limitações técnicas no desenvolvimento de agentes para uso humano, a mais importante barreira para a transição clínica é a disponibilidade de dados que permitam assegurar que a imagiologia molecular se pode destacar como meio diagnóstico eficaz na prática clínica. No entanto, pelos dados apresentados neste manuscrito é inegável o potencial inerente à aplicação da imagiologia molecular na doença aterosclerótica. Com a reprodução de dados a nível celular e molecular surgem novas perspetivas diagnósticas e terapêuticas num mundo onde a DCV assume uma importância crescente.

19 - Bibliografía

1. Rangel-Huerta O, Pastor-Villaescusa B, Aguilera C, Gil A. A Systematic Review of the Efficacy of Bioactive Compounds in Cardiovascular Disease: Phenolic Compounds. *Nutrients*. 2015. 5177-5216 p.
2. Falk E. Pathogenesis of Atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol*. 2006;47(8 SUPPL.):0–5.
3. Nichols M, Townsend N, Scarborough P, Rayner M. Cardiovascular disease in Europe 2014: epidemiological update. *Eur Heart J*. 2014;35(42):2931.
4. Barquera S, Pedroza-tob A, Bibbins-domingo K, Lozano R, Moran AE. Global Overview of the Epidemiology of Atherosclerotic Cardiovascular Disease. 2015;46.
5. Osborn E a., Jaffer F a. The advancing clinical impact of molecular imaging in CVD. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2013;6(12):1327–41.
6. van der Wall EE. Molecular imaging of coronary atherosclerosis; predictive of an acute myocardial infarction? *Neth Heart J*. 2014;22(1):1–2.
7. Sun ZH, Rashmizal H, Xu L. Molecular imaging of plaques in coronary arteries with PET and SPECT. *J Geriatr Cardiol*. 2014;11(3):259–73.
8. WHO. Cardiovascular diseases (CVDs). World Health Organization; 2015 [cited 2015 Dec 11]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/>
9. Cardiovascular disease - Heart health - British Heart Foundation. [cited 2015 Dec 11]. Available from: <https://www.bhf.org.uk/heart-health/conditions/cardiovascular-disease>
10. Phinikaridou A, Andia ME, Lacerda S, Lorrio S, Makowski MR, Botnar RM. Molecular MRI of atherosclerosis. *Molecules*. 2013;18(11):14042–69.

11. WHO | The top 10 causes of death. World Health Organization; 2014 [cited 2015 Dec 23]; Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/>
12. Poloński L. The Role of Septal Perforators and “Myocardial Bridging Effect” in Atherosclerotic Plaque Distribution in the Coronary Artery Disease. *Polish J Radiol.* 2015;80:195–201.
13. Ambrose JA, Singh M. Pathophysiology of coronary artery disease leading to acute coronary syndromes. *F1000Prime Rep.* 2015;7(January):08.
14. Akin I. “Obesity paradox” in coronary artery disease. *World J Cardiol.* 2015;7(10):603.
15. Walcott BP, Peterson RT. Zebrafish models of cerebrovascular disease. *J Cereb Blood Flow Metab. Nature Publishing Group;* 2014;34(4):571–7.
16. WHO | The Atlas of Heart Disease and Stroke. World Health Organization; [cited 2016 Jan 21]; Available from: http://www.who.int/cardiovascular_diseases/resources/atlas/en/
17. Kasper D et al. *Harrison’s Principles of Internal Medicine*, 19e. 2015.
18. Jauch EC, Saver JL, Adams HP, Bruno A, Connors JJB, Demaerschalk BM, et al. Guidelines for the early management of patients with acute ischemic stroke: A guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke.* 2013;44(3):870–947.
19. Lee SJ, Paeng JC. Nuclear molecular imaging for vulnerable atherosclerotic plaques. *Korean J Radiol.* 2015;16(5):955–66.
20. Tomey MI, Narula J, Kovacic JC. Advances in the Understanding of Plaque Composition and Treatment Options. *J Am Coll Cardiol.* 2014;63(16):1604–16.

21. Alie et al. Inflammation, Atherosclerosis, and Coronary Artery Disease: PET/CT for the Evaluation of Atherosclerosis and Inflammation. *Clinical Medicine Insights: Cardiology*. 2014;8:1–11.
22. Leon BM, Maddox TM. Diabetes and cardiovascular disease: Epidemiology, biological mechanisms, treatment recommendations and future research. *World J Diabetes*. 2015;6(13):1246.
23. Phinikaridou A, Andia ME, Shah AM, Botnar RM. Advances in molecular imaging of atherosclerosis and myocardial infarction: shedding new light on in vivo cardiovascular biology. *AJP Hear Circ Physiol*. 2012;303(12):H1397–410.
24. Toor IS, Dweck MR, Newby DE. Molecular imaging of the atherosclerotic plaque using positron emission tomography. *R Coll Physicians Edinburgh*. 2014;139–45.
25. Irkle A, Vesey AT, Lewis DY, Skepper JN, Bird JLE, Dweck MR, et al. Identifying active vascular microcalcification by (18)F-sodium fluoride positron emission tomography. *Nat Commun. Nature Publishing Group*; 2015;6(May):7495.
26. Adamson PD, Vesey AT, Joshi N V, Newby DE, Dweck MR. Salt in the wound: (18)F-fluoride positron emission tomography for identification of vulnerable coronary plaques. *Cardiovasc Diagn Ther*. 2015;5(2):150–5.
27. Lindner JR, Sinusas A. Molecular imaging in cardiovascular disease: Which methods, which diseases? *J Nucl Cardiol*. 2013;20(6):990–1001.
28. Virmani R, Burke AP, Farb A, Kolodgie FD. Pathology of the Vulnerable Plaque. *J Am Coll Cardiol*. 2006;47(8):C13–8.
29. Associação Portuguesa de Tecnicos de Medicina Nuclear. 2014 [cited 2015 Dec 26].

Available from: <http://www.aptnm.pt/curiosidades.html>

30. Slomka P, Berman DS, Alexanderson E, Germano G, Medical C, Angeles L, et al. The role of PET quantification in cardiovascular imaging. *Clin Transl Imaging*. 2015;2(4):343–58.
31. ALehyani SHA. Application of single photon emission computed tomography (SPECT) parameters for bone scintigraphy. *J King Saud Univ - Sci. King Saud University*; 2009;21(2):109–17.
32. Saha GB. Basics of PET Imaging: Physics, Chemistry, and Regulations. *Basics PET Imaging Physics, Chem Regul*. 2010;1–241.
33. Su H, Gorodny N, Gomez LF, Gangadharmath UB, Mu F, Chen G, et al. Atherosclerotic plaque uptake of a novel integrin tracer 18F-Flotegatide in a mouse model of atherosclerosis. *J Nucl Cardiol*. 2014;21(3):553–62.
34. Mojtahedi A, Alavi A, Thamake S, Amerinia R, Ranganathan D, Tworowska I, et al. Assessment of vulnerable atherosclerotic and fibrotic plaques in coronary arteries using (68)Ga-DOTATATE PET/CT. *Am J Nucl Med Mol Imaging*. 2015;5(1):65–71.
35. Sarda-Mantel L, Alsac JM, Boisgard R, Hervatin F, Montravers F, Tavitian B, et al. Comparison of 18F-fluoro-deoxy-glucose, 18F-fluoro-methyl-choline, and 18F-DPA714 for positron-emission tomography imaging of leukocyte accumulation in the aortic wall of experimental abdominal aneurysms. *J Vasc Surg*. 2012;56(3):765–73.
36. Gerber BL. In vivo evaluation of atherosclerotic plaque inflammation and of anti-inflammatory effects of statins by FDG PET. *JAmCollCardiol*. 2013;62(1558-3597):18–20.

37. Folco EJ, Sheikine Y, Rocha VZ, Christen T, Shvartz E, Sukhova GK, et al. Hypoxia but not inflammation augments glucose uptake in human macrophages: Implications for imaging atherosclerosis with 18fluorine-labeled 2-deoxy-D-glucose positron emission tomography. *J Am Coll Cardiol*; 2011;58(6):603–14.
38. Rosenbaum D, Millon A, Fayad ZA. Molecular imaging in atherosclerosis: FDG PET. *Curr Atheroscler Rep*. 2012;14(5):429–37.
39. Noh TS, Moon S-H, Cho YS, Hong SP, Lee EJ, Choi JY, et al. Relation of Carotid Artery 18F-FDG Uptake to C-Reactive Protein and Framingham Risk Score in a Large Cohort of Asymptomatic Adults. *J Nucl Med*. 2013;54(12):2070–6.
40. Figueroa AL, Subramanian SS, Cury RC, Truong QA, Gardecki JA, Tearney GJ, et al. Distribution of inflammation within carotid atherosclerotic plaques with high-risk morphological features a comparison between positron emission tomography activity, plaque morphology, and histopathology. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2012;5(1):69–77.
41. Sogbein OO, Pelletier-Galarneau M, Schindler TH, Wei L, Wells RG, Ruddy TD. New SPECT and PET radiopharmaceuticals for imaging cardiovascular disease. *Biomed Res Int*. 2014;2014.
42. Joshi NV, Vesey AT, Williams MC, Shah AS V, Calvert PA, Craighead FHM, et al. 18F-fluoride positron emission tomography for identification of ruptured and high-risk coronary atherosclerotic plaques: A prospective clinical trial. *Lancet* .2014;383(9918):705–13.
43. Meirelles GS, Gonen MSH. 18F-FDG uptake and calcifications in the thoracic aorta on positron emission tomography/computed tomography examinations: frequency and stability on serial scans. *J Thorac Imaging*. 2011;26(1):54–62.

44. Reeps C, Pelisek J, Bundschuh RA, Gurdan M, Zimmermann A, Ockert S, et al. Imaging of acute and chronic aortic dissection by 18F-FDG PET/CT. *J Nucl Med.* 2010;51(5):686–91.
45. Courtois A, Nusgens BV, Hustinx R, Namur G, Gomez P, Somja J, et al. 18F-FDG uptake assessed by PET/CT in abdominal aortic aneurysms is associated with cellular and molecular alterations prefacing wall deterioration and rupture. *J Nucl Med.* 2013;54(10):1740–7.
46. Dweck MR, Jenkins WSA, Vesey AT, Pringle MAH, Chin CWL, Malley TS, et al. 18F-NaF Uptake Is a Marker of Active Calcification and Disease Progression in Patients with Aortic Stenosis. *Circ Cardiovasc Imaging.* 2014;371–9.
47. Tawakol A, Fayad Z, Mogg R, Alon A, Klimas MT, Dansky H et al. Intensification of Statin Therapy Results in a Rapid Reduction in Atherosclerotic Inflammation: Results of A Multi-Center FDG-PET/CT Feasibility Study. *J Am Coll Cardiol.* 2013;62(10):2013.
48. Ishii H, Nishio M, Takahashi H, Aoyama T, Tanaka M, Toriyama T, et al. Comparison of Atorvastatin 5 and 20 mg/d for Reducing F-18 Fluorodeoxyglucose Uptake in Atherosclerotic Plaques on Positron Emission Tomography/Computed Tomography: A Randomized, Investigator-Blinded, Open-Label, 6-Month Study in Japanese Adults Scheduled. *Clin Ther.* 2010;32(14):2337–47.
49. Tahara N, Kai H, Ishibashi M, Nakaura H, Kaida H, Baba K, et al. Simvastatin Attenuates Plaque Inflammation. Evaluation by Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography. *J Am Coll Cardiol.* 2006;48(9):1825–31.
50. Crisby M, Nordin-fredriksson G, Shah PK, Yano J, Zhu J, Nilsson J. Pravastatin

- treatment increases collagen content and decreases lipid content *Circulation*. 2001;103:926–33.
51. Wu YW, Kao HL, Huang CL, Chen MF, Lin LY, Wang YC, et al. The effects of 3-month atorvastatin therapy on arterial inflammation, calcification, abdominal adipose tissue and circulating biomarkers. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2012;39(3):399–407.
 52. Hacker M. Monitoring anti-inflammatory therapies in patients with atherosclerosis: FDG PET emerges as the method of choice. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2012;39(3):396–8.
 53. Watanabe T, Kawasaki M, Tanaka R, Ono K, Kako N, Saeki M, et al. Anti-inflammatory and morphologic effects of pitavastatin on carotid arteries and thoracic aorta evaluated by integrated backscatter trans-esophageal ultrasound and PET/CT: a prospective randomized comparative study with pravastatin (EPICENTRE study). *Cardiovasc Ultrasound*. 2015;13(1):17.
 54. Vucic E, Dickson SD, Calcagno C, Rudd JHF, Moshier E, Hayashi K, et al. Pioglitazone modulates vascular inflammation in atherosclerotic rabbits: Noninvasive assessment with FDG-PET-CT and dynamic contrast-enhanced MR imaging. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2011;4(10):1100–9.
 55. Fayad ZA, Mani V, Woodward M, Kallend D, Abt M, Burgess T, et al. Safety and efficacy of dalcetrapib on atherosclerotic disease using novel non-invasive multimodality imaging (dal-PLAQUE): a randomised clinical trial. *Lancet*. 2011;378(9802):1547–59.
 56. Costa DC, Oliveira JMA, Bressan R a. PET e SPECT em neurologia e psiquiatria: do básico às aplicações clínicas. *Rev Bras Psiquiatr*. 2001;23(Supl I):4–5.

57. Soares Junior J, Fonseca RP, Cerci JJ, Buchpiguel CA, Cunha ML Da, Mamed M, et al. Lista de recomendações do Exame PET/CT com 18F-FDG em Oncologia: consenso entre a Sociedade Brasileira de Cancerologia e a Sociedade Brasileira de Biologia, Medicina Nuclear e Imagem Molecular. Radiol Bras. 2010;43(4):255–9.