



UNIVERSIDADE
LUSÓFONA

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Caracterização Radiómica e Neuroimagiologia Comparada dos Gliomas no Cão e Glioblastomas em Humanos

Dissertação apresentada a provas públicas para a obtenção do grau de mestre em
Medicina Veterinária, orientada pelo Professor Doutor Joaquim José Garcia Pereira
Henriques e Professor Doutor Eduardo Miguel Baptista Ferreira Marcelino

Ricardo Jorge Ferreira Faustino, n.º 21901915

2025

www.ulusofona.pt



UNIVERSIDADE
LUSÓFONA

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Caracterização Radiómica e Neuroimagiologia Comparada dos Gliomas no Cão e Glioblastomas em Humanos

VERSÃO FINAL

Dissertação de Mestrado defendida em provas públicas na Universidade Lusófona, Centro Universitário de Lisboa, no dia 03/06/2025 perante o júri nomeado pelo Despacho de Nomeação nº 336/2025, de maio 2025, com a seguinte composição:
Presidente: Professora Doutora Mariana Raposo Batista
Arguente: Professor Doutor Nuno Miguel de Pinto Lobo e Matela (FCUL, Universidade de Lisboa)
Orientador: Professor Joaquim José Garcia Pereira Henriques
Coorientador: Eduardo Miguel Baptista Ferreira Marcelino

Ricardo Jorge Ferreira Faustino, n.º 21901915

2025

Cooperatores veritatis

« Vous êtes-là, Monsieur Moniz? Est-ce que vous nous apportez du Portugal quelque chose pour faire la localisation des tumeurs cérébrales? »

Comentário de um médico francês a Egas Moniz, durante um congresso médico internacional em Paris, 1927. Do livro: “Confidências de um Investigador Científico” de 1949.

Agradecimentos

Ao longo destes anos tive o privilégio de conhecer pessoas que marcaram a minha vida, tanto a nível privado como profissional e sinto-me grato por cada momento de partilha que Deus me proporcionou no decorrer da minha vida.

Em todas as profissões podemos encontrar pessoas, que pela sua dedicação e paixão se tornam um exemplo para quem pretende almejar um dia tamanha competência na sua área de atuação. O Professor Doutor Joaquim Henriques, é uma dessas pessoas, que vinca bem a importância de um trabalho metódico e disciplinado que nos leva ao sucesso e que algumas pessoas, chamam de sorte, que tipicamente tende a dar muito trabalho. Por isso agradeço-lhe, por ter aceitado o convite para ser o meu orientador nesta dissertação de mestrado e a oportunidade de partilharmos uma paixão comum pela investigação científica.

Agradeço, como não poderia deixar de ser ao meu coorientador, o Professor Doutor Eduardo Marcelino, pela dedicação e paciência que teve connosco nos primeiros anos de estudo, nas aulas de anatomia e pela forma de como encara a árdua tarefa de ensinar, sempre com serenidade e muita paciência.

Não posso deixar de agradecer a Professora Doutora Marta Aires de Sousa, Presidente do Conselho de Direção da Escola Superior de Saúde da Cruz Vermelha Portuguesa de Lisboa, que aceitou que este projeto se realizasse no Laboratório de Imagem Médica e Radioterapia, equipado com as mais modernas estações de pós-processamento de imagem.

Por medo de me esquecer de referir alguém, dirijo uma palavra de admiração e gratidão a todos os professores que se cruzaram comigo ao longo destes seis anos, muito obrigado por tantos momentos de partilha de conhecimento e convivência.

Um beijinho à Inês Lopes pela amizade, simpatia e muitas horas de trabalho e estudo, afinal é verdade, o curso não se faz sozinho. Obrigado a todos os outros colegas que partilharam comigo grupos de trabalho, saídas de campos, atividades hospitalares, que continuemos assim, depois do curso!

Aos meus colegas e amigos de trabalho que sempre me dirigiram palavras de incentivo e compreensão, e um abraço ao Filipe, pelas muitas reuniões no “Boteco”, onde muita ciência já se fez.

Estudar Medicina Veterinária, não é um *sprint*, mas uma maratona, e daí o meu amigo João Pereira, tem razão...é lava!

Um profundo sentimento de gratidão e reconhecimento para a minha família, a começar pelos meus pais, que sempre me apoiaram e encorajaram nas minhas motivações e ambições académicas.

Ao meu irmão por partilhar comigo só o que os irmãos podem entender, és grande!

Aos meus sogros sempre presentes e disponíveis para ajudar, seria impossível pedir mais.

A todos os meus restantes familiares e amigos, cujos nomes não irei citar por medo de me esquecer de alguém, mas com um pensamento para aquelas que vivem mais longe!

Aos que já partiram, mas cuja memória não esquecemos.

Finalmente, à minha mulher, Liliana, com quem partilho o trilho da vida, um caminho que fazemos agora a três, com a nossa Leonor, que um dia quer ser cientista de poções para fazer arcos-íris e deixar as pessoas felizes!

Resumo

Introdução: Os gliomas são tumores cerebrais primários do SNC com um grande impacto na qualidade de vida dos doentes, sejam cães ou humanos. Os glioblastomas humanos são um subtipo mais agressivo, com uma sobrevida média de 15 meses após o diagnóstico. Os gliomas, mais comuns em raças braquicefálicas, apresentam características biológicas semelhantes aos glioblastomas humanos. Este estudo explorou o potencial da radiômica aplicada a imagens de ressonância magnética (RM) ponderadas em T2-FLAIR para caracterizar as lesões tumorais e tecidos sem lesão, com o intuito de desenvolver novos biomarcadores imagiológicos que auxiliem no diagnóstico e prognóstico de gliomas.

Métodos: Foram analisados 39 exames de RM cerebral de gliomas caninos (n=23) e glioblastomas humanos (n=16). As imagens foram segmentadas para definir Regiões de Interesse (ROIs), permitindo a extração de características radiômicas, como a textura, forma e intensidade. A análise incluiu testes estatísticos descritivos e não-paramétricos, ANOVA e curvas ROC, para avaliar a discriminação das características radiômicas selecionadas, nomeadamente *JointEntropy*, *SumEntropy*, *SumAverage*, *JointAverage*, *SumSquares* e *Autocorrelation*.

Resultados: A análise volumétrica revelou diferenças significativas na distribuição de volumes entre os dois grupos de amostras ($p < 0,001$). As características radiômicas selecionadas apresentam potencial para discriminar os tecidos em estudo. As curvas ROC para as três principais características atingiram valores de AUC superiores a 80% ($p < 0,001$). O modelo SVM desenvolvido obteve uma exatidão na classificação de 80,33%,

Discussão: As características radiômicas extraídas permitiram a identificação de padrões de heterogeneidade que refletem a agressividade e a complexidade biológica dos gliomas. A análise de neuroimagiologia comparada reforça a hipótese de os gliomas caninos serem um bom modelo natural e translacional da doença, para o estudo dos glioblastomas humanos, contribuindo para a medicina comparada.

Conclusão: Este estudo demonstrou o potencial da radiômica para caracterizar gliomas caninos e glioblastomas humanos. A identificação de biomarcadores imagiológicos com resultados consistentes fornece uma base para realizar novos avanços na medicina comparada.

e translacional, integrando abordagens comparativas para o desenvolvimento de diagnósticos não invasivos e contribuindo para uma medicina de precisão.

Palavras-chave: Glioma, Radiômica, Ressonância Magnética, Biomarcadores Imagiológicos, Medicina Translacional Reversa.

Abstract

Introduction: Gliomas are primary CNS brain tumors that significantly impact the quality of life of patients, whether in dogs or humans. Human glioblastomas are the most aggressive tumor subtype, with an average survival of 15 months after diagnosis. Brachycephalic dogs are the most predisposed breed to gliomas, exhibiting biological characteristics similar to human glioblastomas. This study explored the potential of radiomics applied to T2-FLAIR-weighted magnetic resonance imaging (MRI) to characterize tumor lesions and non-lesioned tissues, aiming to develop new imaging biomarkers to aid in glioma diagnosis and prognosis.

Methods: MRI scans of canine gliomas and human glioblastomas were analyzed. The images were segmented to define Regions of Interest (ROIs), enabling the extraction of radiomic features such as texture, shape, and intensity. The analysis included descriptive and non-parametric statistical tests, ANOVA, and ROC curves to assess the discrimination capacity of radiomic features, particularly those with an area under the curve (AUC) greater than 80%, such as *jointaverage* and *autocorrelation*.

Results: Volumetric analysis revealed significant differences in volume distribution between the two sample groups ($p < 0.001$). The selected radiomic features showed potential for discriminating the studied tissues. ROC curves for the three main features achieved AUC values above 80% ($p < 0.001$). The developed SVM model achieved a classification accuracy of 80.33%.

Discussion: The extracted radiomic features allowed the identification of heterogeneity patterns reflecting the aggressiveness and biological complexity of gliomas. Comparative neuroimaging analysis reinforces the hypothesis that canine gliomas are a valuable natural and translational model for studying human glioblastomas, contributing to precision medicine. The study's limitations include the small sample size and the need for validation in future studies with greater population diversity.

Conclusion: This study demonstrated the potential of radiomics to characterize canine gliomas and human glioblastomas. The identification of consistent imaging biomarkers provides a foundation for new advances in comparative and translational medicine, integrating

comparative approaches to develop non-invasive diagnostics and contributing to precision medicine.

Keywords: Gliomas, Radiomics, Magnetic Resonance Imaging (MRI), Imaging Biomarkers, Reverse Translational Medicine.

Lista de abreviaturas

ACP – Análise de Componente Principal

AUC - Área Sob a Curva (do inglês: *Area Under Curve*)

DICOM - *Digital Imaging and Communications in Medicine*

DP – Densidade Protónica

DNA - Ácido Desoxirribonucleico (do inglês: *Deoxyribonucleic Acid*)

DSC - Contraste de Susceptibilidade Dinâmica" (do inglês: *Dynamic Susceptibility Contrast*)

DTI - Imagem por Tensor de Difusão (do inglês: *Diffusion tensor imaging*)

DWI - Imagem Ponderada de Difusão (do inglês: *Diffusion-Weighted Imaging*)

EGFR - Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico (do inglês: *Epidermal Growth Factor Receptor*)

FID – Decaimento de Indução Livre (do inglês: *Free Induction Decay*)

FLAIR - Recuperação de Inversão com Atenuação do Fluido (do inglês: *Fluid-Attenuated Inversion Recovery*)

FN – Falsos Negativos

FP – Falsos Positivos

GBM - Glioblastoma Multiforme

GLCM - Matriz de Coocorrência de Níveis de Cinza (do inglês: *Gray Level Co-occurrence Matrix*)

I.V. - Intravascular

IA – Inteligência Artificial

LCR – líquido Cefalorraquidiano

MGMT - Promotor da 06-metilguanina-DNA metiltransferase (do inglês: *O6-Methylguanine-DNA Methyltransferase Promoter*)

ML - Aprendizagem Automática (do inglês: *Machine learning*)

MRS - Espectroscopia por Ressonância Magnética (do inglês: *Magnetic Resonance Spectroscopy*)

MTIC - Monometil triazenoimidazol carboxamida (do inglês: *Monometil triazenoimidazol carboxamida*)

NAA - N-acetilaspártato

OMS – Organização Mundial de Saúde

rCBV - Volume Sanguíneo Cerebral Relativo (do inglês: *Relative Cerebral Blood Volume*)

RECIST - Critérios de Avaliação da Resposta em Tumores Sólidos (do inglês: *Response Evaluation Criteria in Solid Tumours*)

RF - Radiofrequência

RM - Ressonância Magnética

ROC - Característica de Operação do Recetor (do inglês: *Receiver Operating Characteristic*)

ROI – Região de Interesse (do inglês: *Region of Interest*)

SB – Substância Branca

SC – Substância Cinzenta

SE - Eco de Spin (do inglês: *Spin Echo*)

SNC – Sistema Nervoso Central

SVM - Máquina de Vetores de Suporte (do inglês: *Support Vector Machine*)

TE – Tempo de Eco

TI – Tempo de Inversão

TMZ - Temozolomida

TR – Tempo de Repetição

VN – Verdadeiros Negativos

VOI - volumes de Interesse

ÍNDICE

I.	Introdução.....	1
1.1	Enquadramento do estudo.....	1
1.2	Gliomas Caninos	3
1.2.1	Definição, Epidemiologia e Classificação.....	3
1.2.2	Patogénese e manifestação clínica do glioma canino.....	4
1.2.3	Diagnóstico por imagem do glioma canino	4
1.2.4	Abordagem terapêutica do glioma canino.....	5
1.3	Glioblastoma humano	6
1.3.1	Definição, Epidemiologia e Classificação.....	6
1.3.2	Patogénese e Manifestação Clínica do glioblastoma humano	7
1.3.3	Abordagem terapêutica do glioblastoma humano	7
1.4	Desafios no diagnóstico e tratamento dos gliomas	8
1.5	Neuroimagem comparada: Gliomas Caninos vs Glioblastomas Humanos.....	9
1.5.1	Neuroanatomia comparada: estrutura e função	9
1.5.2	Características neurorradiológicas dos gliomas caninos	13
1.5.3	Características neurorradiológicas dos glioblastomas humanos	14
1.6	Radiômica.....	17
1.6.1	Princípios e Aplicações.....	17
1.6.2	Evolução da Radiômica.....	18
1.6.3	Classificação das características radiômicas	19
1.6.4	A radiômica em medicina veterinária	21
1.6.5	Implementação da radiômica na prática clínica veterinária.....	21
1.7	Imagem por Ressonância Magnética.....	23
1.7.1	Princípios físicos de RM	23
1.7.2	Localização Espacial	35
1.8	Princípios Físicos FLAIR.....	36
1.8.1	Aplicações Clínicas da Sequência T2-FLAIR	37
II.	Material e métodos	39
2.1	Delineamento do Estudo	39
2.2	Seleção de Casos (Amostras Caninas e Humanas)	39
2.3	Sequências de RM para volumetria e caracterização radiômica	41
2.4	Segmentação e análise volumétrica.....	42
2.5	Extração e análise das características Radiômicas	43
2.6	Análise Estatística	44
2.7	Desenvolvimento de um modelo de inteligência artificial.....	44

III. Resultados.....	46
3.1 Resultados da análise volumétrica	46
3.2 Resultados da análise radiômica	47
IV. Discussão	54
4.1 Influencia da diferença de volume cerebral entre espécies	54
4.2 Heterogeneidade tumoral e malignidade.....	54
4.3 Uniformidade e densidade celular	55
4.4 Diferenças entre espécies e relevância dos glioma canino como Modelo translacional	56
4.5 Implicações clínicas e futuras aplicações na medicina personalizada	58
4.6 Importância do desenvolvimento de um Modelo de IA	58
4.7 Limitações do estudo e trabalhos futuros.....	60
V. Conclusão.....	61
VI. Referências Bibliográficas	63

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Características e achados em RM do glioma canino.	13
Tabela 2. Características e achados em RM do glioblastoma humano	15
Tabela 3. Dados demográficos da amostra canina para análise radiômica.	40
Tabela 4. Dados demográficos da amostra canina para análise volumétrica.	40
Tabela 5. Dados demográficos da amostra humana para análise radiômica.	41
Tabela 6. Resultados da volumetria para a amostra canina e humana	46
Tabela 7. Análise descritiva das características radiômicas.	49
Tabela 8. Análise das características radiômicas com medidas repetidas ANOVA.	50
Tabela 9. Resultados das curvas ROC.....	51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Total de tarefas principais realizadas.....	XVIII
Figura 2. Vista dorsal do encéfalo canino.....	10
Figura 3. Vista ventral do encéfalo canino.....	10
Figura 4. Evolução do encéfalo dos cães e humanos.....	11
Figura 5. Orientação do cérebro e da medula espinhal em humanos e quadrúpedes.....	11
Figura 6. <i>Spin</i> nuclear.....	24
Figura 7. As duas possíveis orientações de <i>spin</i> , antiparalela e paralela.....	26
Figura 8. Excitação dos <i>spins</i>	27
Figura 9. Curva de recuperação de T1.....	29
Figura 10. Ilustração gráfica da curva de decaimento T2.....	30
Figura 11. Representação gráfica da correlação entre TR e contraste T1.....	33
Figura 12. Representação gráfica da relação entre TE e contraste T2.....	33
Figura 13. Imagens de RM cerebral do Cão e do Homem.....	34
Figura 14. Esquema da sequência FLAIR.....	37
Figura 15. Neuroimagiologia comparada do glioma canino e glioblastoma humano.....	42
Figura 16. Segmentação e reconstrução 3D das lesões.....	47
Figura 17. Análise ACP.....	48
Figura 18. Análise curvas ROC.....	51
Figura 19. Matriz de confusão do grupo de teste.....	52
Figura 20. Matriz de confusão do grupo total de doentes.....	53
Figura 21. Radiômica translacional veterinária.....	59

Descrição das Actividades de Estágio

O presente estágio decorreu entre o dia 4 de setembro de 2024 e 5 de janeiro de 2025, num total de 928 horas de estágio (688 horas de contacto e 240 horas de trabalho para preparação da dissertação), que se realizou no Laboratório de Imagem Médica e Radioterapia da Escola Superior de Saúde da Cruz Vermelha Portuguesa de Lisboa, diversas atividades práticas e analíticas foram realizadas, cobrindo as etapas fundamentais da investigação comparada entre gliomas caninos e glioblastomas humanos. Na prática, foram analisados 39 exames de ressonância magnética cerebral, muito focado na sequência T2-FLAIR. O autor foi responsável pela segmentação de 78 regiões de interesse entre volumes cerebrais ($n=78$), lesões tumorais ($n=31$) e tecidos sem lesão ($n=31$) definindo com precisão as delimitações das Regiões de Interesse (ROIs). Foram ainda realizadas 39 volumetrias cerebrais, o que permitiu obter uma análise detalhada das características morfológicas e estruturais entre as amostras caninas e humanas (figura 1).

No âmbito da imagiologia computacional, foram extraídas características radiómicas quantitativas, abrangendo dados de textura, forma e intensidade das lesões tumorais. O autor usou métodos estatísticos avançados e criou um modelo de *Machine Learning* por *Support Vector Machine* (SVM), que culminou pelo desenvolvimento de uma ferramenta pré-clínica auxiliar o diagnóstico não invasivo dos tumores cerebrais, nomeadamente dos gliomas.

Total de tarefas principais realizadas

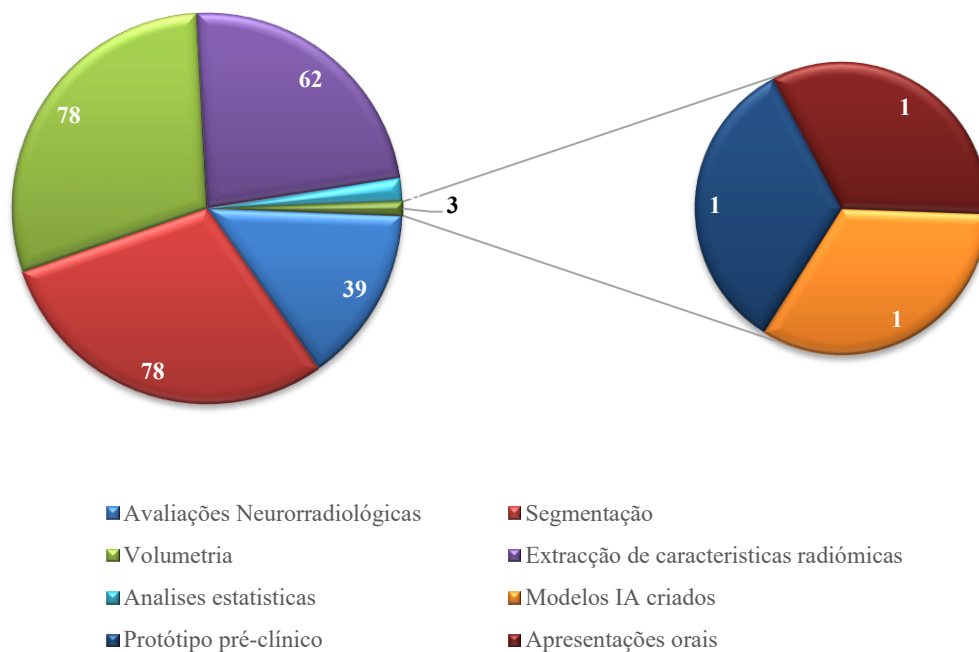


Figura 1. Total de tarefas principais realizadas.

Distribuição das tarefas principais realizadas durante o período de estágio no laboratório de imagem médica e radioterapia, da ESSCVP-Lisboa. Elaboração própria.

As atividades realizadas permitiram não só a aquisição de novos dados para a caracterização imagiológica dos gliomas, mas também permitiu reforçar o papel da radiômica como uma ferramenta essencial na medicina de precisão e na neuro-oncologia comparada. A experiência adquirida foi determinante para consolidar a relevância de abordagens interdisciplinares e inovadoras na investigação translacional, tendo já realizado uma apresentação oral no “*One Cancer* – 1.º Simpósio de Oncologia Comparada”, realizado em 2024 na Universidade Lusófona – Centro Universitário de Lisboa.

I. INTRODUÇÃO

1.1 ENQUADRAMENTO DO ESTUDO

Os gliomas são um grupo de tumores heterogêneos com origem nas células da glia do sistema nervoso central, sendo o glioblastoma a forma mais agressiva e responsável por uma maior mortalidade. Este tipo de tumor é caracterizado por apresentar uma alta taxa de proliferação celular, responsável por uma invasão difusa do tecido cerebral envolvente. Os glioblastomas são também conhecidos por possuírem uma forte resistência a tratamentos convencionais, e por isso por uma baixa sobrevivência dos doentes afectados (Schaff & Mellinshoff, 2023; Suñol et al., 2017). O estudo de gliomas em modelos animais, como o cão, surge como uma solução que pode contribuir para criar e obter novos conhecimentos fundamentais para a compreensão dos mecanismos biológicos subjacentes ao desenvolvimento e progressão dos tumores cerebrais tanto em humanos como em cães (Yost & Angelastro, 2023).

As raças de cães mais predispostas e com um diagnóstico mais frequente de glioma são os cães braquicefálicos. Nestes, eles apresentam características biológicas similares aos glioblastomas humanos, que se manifestam pela presença de um crescimento fortemente invasivo e com uma importante heterogeneidade intratumoral (José-López et al., 2021).

Para o estudo destes dois grupos de tumores, realizou-se uma abordagem baseada num novo ramo das chamadas “ómicas”, a radiômica, uma nova metodologia que tem por base a transformação de imagens médicas em dados quantitativos. *A posteriori*, estes resultados podem ser utilizados para o desenvolvimento de novas ferramentas de diagnóstico, permitindo obter novos dados úteis para a criação de modelos de prognóstico, bem como de tratamentos mais personalizados (Gillies et al., 2016; Nakajima, et al., 2024). Para tal, o uso de imagens de ressonância magnética (RM), permite a realização de uma vasta extração de características que metem em evidência a textura, a forma e a intensidade das lesões, e assim fornecer informações adicionais sobre a biologia dos tumores cerebrais (Lin, et al., 2024).

No presente estudo, a utilização de técnicas avançadas de radiômica, para análise de imagens ponderadas em T2-FLAIR (do inglês: *T2-weighted-Fluid-Attenuated Inversion Recovery*) pode contribuir para a identificação de características comuns entre os gliomas caninos e os glioblastomas humanos, possibilitando a extração de características radiômicas

que consigam ajudar a criar estratégias para o desenvolvimento de novas ferramentas de apoio ao diagnóstico, ultrapassando a barreira da análise visual qualitativa do médico radiologista, para uma abordagem quantitativa e alicerçada nas mais modernas técnicas de imagem da atualidade.

A pressão existente sobre a necessidade de desenvolver novas formas de diagnóstico e de tratamento para os glioblastomas, surge como estímulo para a criação de novos projetos de investigação, com o intuito de desenvolver novos biomarcadores, tendo aqui a neurorradiologia um papel fundamental. Esta área da imagiologia médica é responsável pela aquisição de dados neuro-imagiológicos fundamentais para prever a resposta ao tratamento, mas também garantir uma abordagem mais personalizada, em função da informação transmitida para a equipa de clínicos, que se quer multidisciplinar. No entanto, a investigação translacional em imagiologia oncológica enfrenta desafios, como a complexidade biológica dos tumores e a falta de modelos pré-clínicos apropriados que reflitam com alto nível de precisão a doença em humanos (Rodríguez-Camacho et al., 2022). Sendo assim, os cães que padecem de gliomas constituem uma fonte única para a realização de estudos comparativos, uma vez que este tipo de tumores surge naturalmente nestes animais, compartilhando características biológicas com os glioblastomas humanos (Yost & Angelastro, 2023), e por isso um bom modelo natural da doença para ser usado numa abordagem que podemos doravante designar por “*One Medicine, One Imaging*”.

A utilização da radiômica para analisar imagens obtidas por ressonância magnética permite a identificação de características próprias dos tumores que não são visíveis a olho nu, surgindo como uma nova forma de caracterização da lesão tumoral que é mais sensível e específica do que os métodos tradicionais de imagem (Li & Zhou, 2022). O protocolo de RM para a realização de uma aquisição cerebral é constituído por várias sequências, sendo que neste estudo optou-se pela utilização da sequência T2-FLAIR, uma vez que possui características específicas para pôr em evidência as lesões cerebrais, especialmente nas áreas próximas ao líquido cefalorraquidiano (LCR), no qual o sinal de RM é suprimido, o que facilita a análise quantitativa das regiões afetadas pelo tecido tumoral (Garrett et al., 2017; Hoff et al., 2021).

Este estudo pretende contribuir para a construção de uma ponte entre a medicina veterinária e humana, pela utilização de técnicas avançadas de imagem e de extração de características radiômicas para analisar os padrões de heterogeneidade tumoral nos gliomas

caninos e glioblastomas humanos. A identificação de características radiômicas, com potencial para desenvolver um biomarcador imagiológico será um marco para uma estratégia integrada de "*One Cancer*", contribuindo para os avanços na medicina translacional reversa.

Esta dissertação, apresenta por isso um estudo retrospectivo, do tipo descritivo-correlacional e de paradigma quantitativo, focado na análise de imagens de ressonância magnética T2-FLAIR e na extração de características radiômicas para avaliar a heterogeneidade tumoral em gliomas caninos e glioblastomas humanos.

1.2 GLIOMAS CANINOS

1.2.1 DEFINIÇÃO, EPIDEMIOLOGIA E CLASSIFICAÇÃO

O glioma tem a sua origem nas células da glia, *i.e.*, astrócitos, oligodendrócitos e células endoteliais do cérebro e da medula espinhal. Atualmente a classificação histológica tem por base o tipo de tumor, podendo ser: 1- oligodendroglioma, 2- astrocítico ou 3- indefinido, sendo ainda possível descrever a sua distribuição nos tecidos como 1- compacta, 2- infiltrativa focal ou 3 - difusamente infiltrativa e ainda considerar o seu grau: 1- baixo ou 2- alto. Estas características histológicas possuem tradução imagiológica, o que permite a realização de comparações entre a classificação histológica e a neuroimagem (Scriver, 2022).

A prevalência de gliomas em cães está associada a vários fatores, nomeadamente demográficos e genéticos. A maioria dos casos são diagnosticados em cães de meia-idade a idosos. Dos estudos realizados podemos verificar que a idade média no momento do diagnóstico é de oito anos. Os estudos realizados na última década põem em evidência que a doença é mais prevalente nos machos, com um valor de incidência relativa de 1,53 comparativamente com as fêmeas (Miller & Rossmeisl, 2019). Os estudos até a data referem que as raças braquicefálicas, como por exemplo o Bulldog Inglês, o Boxer e o Boston Terrier, possuem um risco mais elevado, o que indica uma possível predisposição genética que se pode relacionar com variações genéticas associados ao desenvolvimento tumoral, nomeadamente a proteína quinase quinase 2 dependente de cálcio/calmodulina (CAMKK2) e o purinoreceptor P2RX7 (Miller & Rossmeisl, 2019; Truve et al., 2016;). Estas duas variantes foram identificadas como possíveis fatores de risco para o desenvolvimento de gliomas, e por serem alvos para a implementação de estratégias preventivas e de terapêuticas dirigidas (Miller & Rossmeisl, 2019).

1.2.2 PATOGÊNESE E MANIFESTAÇÃO CLÍNICA DO GLIOMA CANINO

Os gliomas são tumores do sistema nervoso central (SNC), que se manifestam por terem um comportamento invasivo dos tecidos cerebrais, e dos seus efeitos secundários, como por exemplo a presença de edema peritumoral e de hipertensão intracraniana. De um ponto de vista clínico, os sinais que se podem observar nos doentes que padecem deste tipo de tumores, variam em função da sua localização, e são acompanhados com frequência de crises convulsivas e alterações comportamentais, particularmente no caso dos tumores do lobo fronto-olfativo, enquanto que os tumores localizados no tronco cerebral encontram-se associados a alterações vestibulares e do equilíbrio (José-López et al., 2021). A progressão destes sintomas encontra-se diretamente relacionado com o aumento do volume tumoral, responsável pela exacerbação dos sinais clínicos, e que tem como consequência o desenvolvimento de danos neurológicos mais acentuados à medida que o tumor aumenta de volume (José-López et al., 2021).

Os gliomas caninos representam cerca de 36% a 70% das neoplasias intracranianas primárias, com maior prevalência nas raças braquicefálicas. As suas características histológicas revelam um comportamento invasivo, que na maioria dos casos clínicos tendem a ter um prognóstico reservado (Bentley et al., 2013). Estão geralmente associados a produção de encefalopatia ou mielopatia isolada que afeta a substância cinzenta, a substância branca ou ambas, sendo também possível observar múltiplas lesões. As lesões isoladas ou múltiplas podem ser discretas (compactas), infiltrativas ou difusas. Algumas apresentações de glioma difuso são descritas como gliomatose cerebri ou gliomatose cerebelli, dependendo da localização do tumor. De uma forma geral os gliomas envolvem as estruturas supratentoriais, que podem também envolver as estruturas infratentoriais ou espinhais (Scrivani, 2022).

1.2.3 DIAGNÓSTICO POR IMAGEM DO GLIOMA CANINO

A RM é a técnica de imagiologia preferencial para o diagnóstico de gliomas em cães, pois permite uma excelente caracterização dos tecidos cerebrais e possibilita a obtenção de informações detalhadas sobre a localização, extensão e características do tumor. Os gliomas caninos são geralmente apresentados como sendo lesões intra-axiais, com variação na intensidade de sinal de RM nas imagens ponderadas em T1 e T2, acompanhadas de edema peritumoral e diferentes padrões de realce de contraste, administrado por via intravenosa (I.V.) (Scrivani, 2022). Podem-se observar diferenças nos subtipos de gliomas: os oligodendrogliomas, por exemplo, tendem a exibir margens mais lisas e com hipointensidade

em T1, enquanto que os astrocitomas são caracterizados pela presença de um edema mais acentuado e ausência de alterações a nível ventricular. Apesar destas características, a precisão na determinação do tipo e grau do tumor apenas com base nos dados imagiológicos permanece limitada, com uma precisão entre 53% e 60% (José-López et al., 2021).

Os critérios de classificação para os gliomas caninos têm por base a classificação usada para os tumores humanos, como é o caso do sistema de classificação da Organização Mundial da Saúde (OMS) (Weller et al., 2024). Recentemente, o *Comparative Brain Tumor Consortium* (CBTC) propôs uma revisão dos critérios diagnósticos, integrando dados de biologia molecular dos gliomas caninos, com o objetivo de otimizar o valor preditivo para o comportamento biológico do tumor e desta maneira fornecer dados mais precisos para o tratamento (Miller et al., 2019).

1.2.4 ABORDAGEM TERAPÊUTICA DO GLIOMA CANINO

A gestão terapêutica do glioma canino é complexa devido à sua profunda localização no cérebro e ao comportamento invasivo que apresenta. A opção terapêutica disponível atualmente centra-se na neurocirurgia, radioterapia e quimioterapia, que podem ser administradas de forma isolada ou em combinação (Gieger et al., 2025; José-López, 2023). Já a intervenção cirúrgica, tem por objetivo a máxima excisão tumoral, mas a natureza infiltrativa dos gliomas, impede muitas vezes a excisão total do tumor, o que contribui de forma significativa para a diminuição desta opção, uma vez que pode deixar células tumorais residuais, o que potencia uma recidiva desta neoplasia. Embora ainda não esteja disponível em Portugal, a radioterapia tem demonstrado resultados promissores (Gieger et al., 2025), contribuindo para um aumento da sobrevida dos animais, nomeadamente quando estes tratamentos se encontram associados a outras opções terapêuticas (José-López, 2023).

A quimioterapia, possui algum benefício no aumento da sobrevida, principalmente através da administração de temozolomida e a lomustina (agentes alquilantes). Estes fármacos têm maior capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica e causar danos no DNA das células tumorais (José-López, 2023).

No organismo, a temozolomida é convertida no ativo monometil triazenoimidazol carboxamida (MTIC), causando danos no DNA das células e impedindo a divisão celular, retardando a progressão dos gliomas (Tresch et al., 2021). Este fármaco permite ainda aumentar

a sobrevida dos doentes quando é utilizada concomitantemente com outras modalidades terapêuticas, nomeadamente com cirurgia e radioterapia, sendo atualmente a abordagem em medicina humana para gliomas de alto grau (José-López, 2023; Van den Bent et al., 2023; Wang et al., 2023; Ziu et al., 2025).

Apesar dos avanços da investigação biomédica, persistem certas dificuldades na obtenção de um diagnóstico histológico pré-tratamento, associado aos riscos e custos das biópsias. Outro desafio, está associado as próprias características desta neoplasia (Miller et al., 2019). A invasão difusa das células tumorais diminui o efeito das terapias locais, como a cirurgia e a radioterapia, uma vez que as células tumorais remanescentes podem facilmente levar à recidiva. Neste contexto, entende-se a urgência em desenvolver novas estratégias terapêuticas, tais como a imunoterapia que exploram as características biológicas específicas dos gliomas. Para além destas novas abordagens, o desenvolvimento de biomarcadores para a monitorização da progressão tumoral e resposta a terapêutica é fundamental (Miller et al., 2019).

O desenvolvimento de terapias dirigidas que visem especificamente as células estaminais cancerígenas e os mecanismos de invasão tumoral é uma área promissora de investigação (Yoshida, et al., 2023). A imunoterapia, terapias baseadas em nanopartículas e a utilização de abordagens genéticas para corrigir as mutações que conferem suscetibilidade ao glioma são áreas emergentes de estudo que podem transformar o panorama terapêutico nos próximos anos (Miller et al., 2019)

1.3 GLIOBLASTOMA HUMANO

1.3.1 DEFINIÇÃO, EPIDEMIOLOGIA E CLASSIFICAÇÃO

O glioblastoma (GBM) é o tumor primário maligno mais comum e agressivo do sistema nervoso central, e representa cerca de 48,6% dos tumores malignos intracranianos. Apesar dos avanços terapêuticos nas últimas décadas, o prognóstico para os doentes com GBM mantém-se desfavorável, tendo uma sobrevida média de 15 meses após o diagnóstico (Grochans et al., 2022).

O GBM afeta principalmente adultos, com uma incidência média ajustada por idade de 3,2 por 100.000 habitantes, sendo mais comum em homens do que em mulheres (relação 1,6:1). O pico de incidência ocorre entre os 75 e 84 anos de idade. A maioria dos casos é de glioblastoma primário, desenvolvendo-se de forma *de novo*, enquanto os glioblastomas secundários surgem a partir da progressão de gliomas de baixo grau em indivíduos mais jovens (Davis, 2016). Os fatores de risco incluem história de radioterapia prévia, mutações genéticas hereditárias como na síndrome de Li-Fraumeni e exposição a fatores ambientais específicos, embora a evidência para estas últimas seja menos consistente (Schaff & Mellinghoff, 2023).

1.3.2 PATOGÊNESE E MANIFESTAÇÃO CLÍNICA DO GLIOBLASTOMA HUMANO

A patogênese do glioblastoma multiforme (GBM) é complexa, e envolve múltiplos mecanismos genéticos e epigenéticos (Lucchini, et al., 2024). Os tumores são frequentemente caracterizados por alterações nas vias de sinalização da p53, recetor de tirosina quinase/Ras/PI3K, que contribuem para a proliferação celular descontrolada e evasão de mecanismos de morte celular (Wang et al., 2023). As mutações no gene isocitrato desidrogenase 1 (IDH1) são importantes para distinguir os gliomas de baixo grau que evoluem para GBM secundário dos glioblastomas primários, que apresentam características moleculares específicas, como a amplificação do recetor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) e a perda do cromossoma 10q (Davis, 2016; Rodríguez-Camacho et al., 2022).

Os avanços realizados no campo da genómica permitiram a identificação de quatro subtipos principais de GBM: clássico, proneural, neural e mesenquimal. Cada um destes subtipos possui padrões específicos de expressão genética e prognósticos distintos, o que pode influenciar a resposta ao tratamento (Castresana & Meléndez, 2023). Os tumores com mutações no EGFR tendem a ser mais agressivos, enquanto que a presença de metilação do promotor de MGMT está associada a uma melhor resposta à quimioterapia com temozolomida, devido à diminuição da capacidade de reparação do DNA (Castresana & Meléndez, 2023).

1.3.3 ABORDAGEM TERAPÊUTICA DO GLIOBLASTOMA HUMANO

O protocolo de tratamento padrão para o GBM, conhecido como protocolo de Stupp, envolve a ressecção cirúrgica máxima, seguida de radioterapia e quimioterapia com temozolomida (Fasano et al., 2024; Jezierzański et al., 2024). Esta combinação permite alcançar uma maior sobrevida comparativamente com uma terapêutica unicamente focada na

radioterapia, aumentando a taxa de sobrevida a dois anos para cerca de 27,2%, em comparação com 10,9% quando o tratamento se baseia unicamente na radioterapia (Rodríguez-Camacho et al., 2022). No entanto, quase todos os GBMs recidivam após o tratamento inicial.

Recentemente, o desenvolvimento de novas estratégias baseadas em radiocirurgia estereotáxica e terapias sistêmicas com bevacizumabe ou lomustina têm mostrado benefícios limitados na extensão da sobrevida em casos de recidiva (Zhong et al., 2024). Adicionalmente, terapias inovadoras, como os campos de baixa intensidade e frequência intermediária de corrente elétrica alternada (do inglês: *Tumor-treating fields*, TTFields) (Mikic et al., 2024) e imunoterapias, oferecem uma nova esperança para melhorar a sobrevida e a qualidade de vida dos doentes (Minniti et al., 2021; Xu et al., 2020; Yasinjan et al., 2023)

1.4 DESAFIOS NO DIAGNOSTICO E TRATAMENTO DOS GLIOMAS

Os avanços terapêuticos para o GBM ainda são muito humildes. Os tratamentos emergentes baseados nas imunoterapias (Yuan et al., 2022), como os inibidores de *checkpoint* (Ser et al., 2024), terapia com células CAR T (Luksik et al., 2023) e vírus oncolíticos, bem como de novas moléculas sintéticas e compostos naturais que estão a ser testados em ensaios pré-clínicos, fazem parte de um esforço importante da atual investigação em biomedicina (Gunasegaran et al., 2024). O desafio reside na resistência intrínseca do GBM à quimioterapia e radioterapia, muitas vezes associada à presença de células estaminais tumorais que promovem a recidiva. A abordagem futura inclui estratégias combinadas que visam diferentes alvos moleculares e vias de sinalização, procurando aumentar a eficácia terapêutica (Onciul et al., 2024).

A utilização de perfis genéticos para orientar o tratamento personalizado representa uma fronteira muito promissora na oncologia e medicina de precisão. A realização de Ensaaios clínicos para identificar biomarcadores preditivos e tratamentos adaptados ao perfil molecular de cada tumor são fundamentais para melhorar o tratamento e prognóstico de doentes com GBM (Davis, 2016; Schaff & Mellinghoff, 2023).

1.5 NEUROIMAGIOLOGIA COMPARADA: GLIOMAS CANINOS VS GLIOBLASTOMAS HUMANOS

1.5.1 NEUROANATOMIA COMPARADA: ESTRUTURA E FUNÇÃO

A anatomia comparada do cérebro de cães e humanos revela importantes diferenças a nível estrutural, bem como semelhanças funcionais que refletem as adaptações evolutivas ao longo dos séculos (figuras 1-3). A realização de estudos de neuroimagiologia avançada demonstraram que ambas as espécies partilham as principais estruturas cerebrais, como o córtex cerebral, hipocampo, amígdala e cerebelo (Berns, 2020). A comparação de ambos os cérebros, evidencia que os cães apresentam menos circunvoluções e menor densidade de neurónios no córtex, especialmente no lobo frontal, que ocupa cerca de 10% do cérebro canino, em contraste com aproximadamente 30% no humano (figuras 2-5). Esta diferença implica uma menor capacidade de planeamento abstrato nos cães, mas também demonstra uma especialização em outras áreas, como o olfato, que ocupa uma proporção muito maior do cérebro canino (Berns, 2020; Bunford et al., 2020).

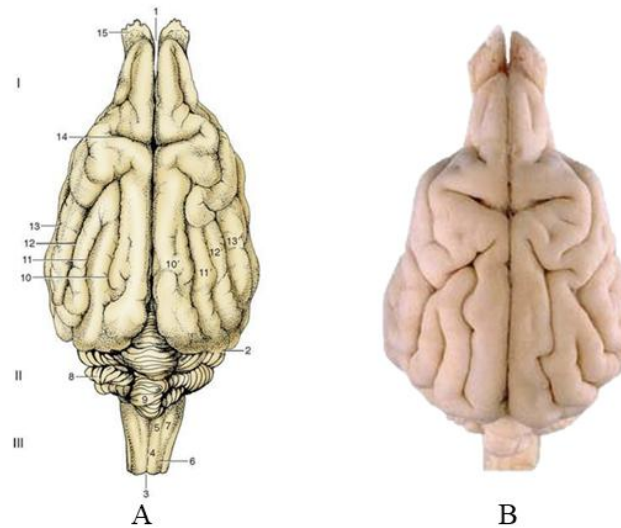


Figura 2. Vista dorsal do encéfalo canino.

A) Representação esquemática. I, hemisférios cerebrais; ii, cerebelo; iii, medula oblonga. 1, fissura longitudinal; 2, fissura transversa; 3, sulco mediano dorsal; 4, trato grácil; 5, núcleo grácil; 6, trato cuneiforme; 7, núcleo cuneiforme; 8, hemisfério cerebelar; 9, verme cerebelar; 10; sulco marginal; 10', giro marginal; 11, sulco ectomarginal; 11', giro ectomarginal; 12, sulco suprassilviano; 12', giro suprassilviano; 13, sulco ectossilviano; 13', giro ectossilviano; 14, sulco cruzado; 15, bulbo olfatório. B) Encéfalo real (Adaptado de Dyce, et al., 2010).

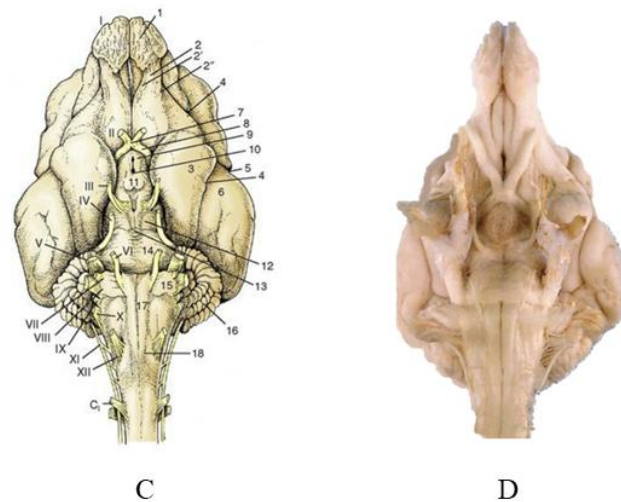


Figura 3. Vista ventral do encéfalo canino.

C-D) vista ventral do encéfalo canino. 1, bulbo olfatório; 2, trato olfatório; 2', trato olfatório medial; 2'', trato olfatório lateral; 3, lobo piriforme; 4, sulco rinal; 5, sulco silviano; 6, giro ectossilviano; 7, quiasma óptico; 8, trato óptico; 9, túber cinéreo; 10, infundíbulo (a hipófise foi removida e o terceiro ventrículo aberto); 11, corpo mamilar; 12, pedúnculo cerebral; 13, fossa interpeduncular; 14, ponte; 15, corpo trapezoide; 16, hemisfério cerebelar; 17, trato piramidal; 18, cruzamento dos tratos piramidais. Os números i-xii designam os respectivos nervos cranianos. B, encéfalo de um cão. (Adaptado de Dyce et al., 2010)

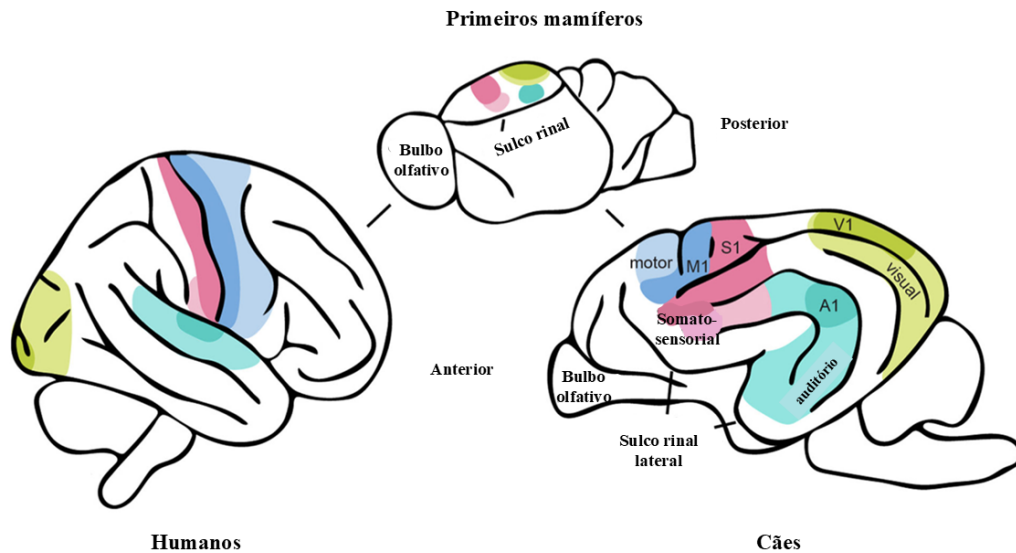


Figura 4. Evolução do encéfalo dos cães e humanos.

Os primatas e carnívoros divergiram há mais de 95 milhões de anos. O neocórtex expandiu-se em ambas as espécies, mas estruturas como o lobo temporal evoluíram de forma independente (kaas, 2013; lyras, 2009). V1: córtex visual primário; a1: córtex auditivo primário; a: anterior; p: posterior (Adaptado de Boch et al., 2024).

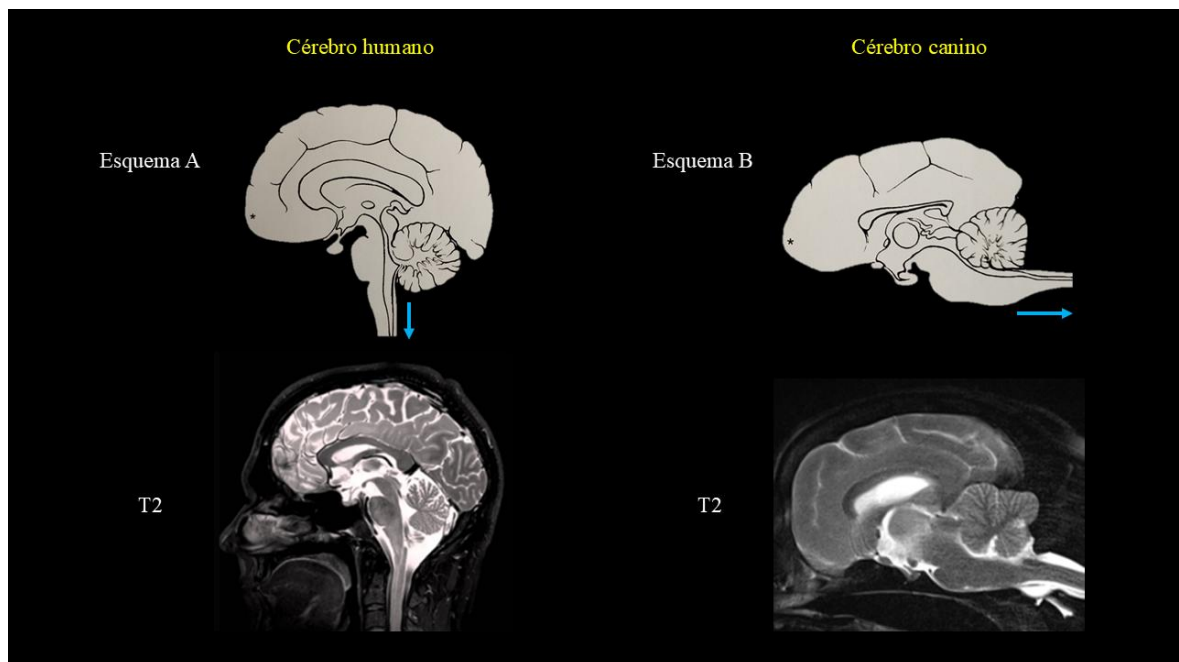


Figura 5. Orientação do cérebro e da medula espinhal em humanos e quadrúpedes.

A parte mais anterior do cérebro (*) está orientada para a esquerda em ambas as espécies. A medula espinhal (setas) é vertical nos humanos e horizontal nos quadrúpedes, devido a uma flexão de 90° no eixo nervoso central humano. Isto resulta na equivalência dos planos anatômicos no pescoço para ambas as espécies, mas não na cabeça: um plano transversal nos quadrúpedes corresponde a um plano coronal nos humanos, enquanto que um plano dorsal nos quadrúpedes alinha-se com um plano transversal nos humanos (adaptado de Scrivani, 2022).

No processamento visual e social, os humanos possuem uma clara especialização para o reconhecimento facial, com regiões como a circunvolução fusiforme e o córtex occipital inferior. No entanto nos cães, estas áreas são menos especializadas. Estes estudos por ressonância magnética funcional (RMf) mostram que o cérebro canino responde de forma mais intensa a estímulos de conspecificidade, i.e., estímulos provenientes de outros cães como vocalizações e cheiros, por exemplo, do que propriamente ao reconhecimento facial. Esta diferença aponta para uma maior contribuição funcional de estímulos específicos para a sobrevivência e interação no ambiente canino (Bunford et al., 2020).

Os cães mostram uma importante ativação no giro supratentorial em resposta a rostos e corpos, especialmente de outros cães, enquanto que nos humanos, as áreas como o sulco temporal superior também processam informações relacionadas de rostos humanos. Estas distinções anatômicas e funcionais refletem a adaptação de cada espécie às suas necessidades ecológicas e sociais (Bunford et al., 2020).

Apesar destas diferenças, as semelhanças entre humanos e cães, como a capacidade de reconhecer estímulos sociais e a existência de sistemas de recompensa cerebrais altamente combinados com interações positivas, põem em evidência o impacto da domesticação e coevolução. Os estudos de RMf mostram ainda que o núcleo caudado de ambos os cérebros encontra-se ativado por estímulos sociais, como a presença ou voz do tutor humano nos cães, esta evidência reforça a importante contribuição da ligação entre ambas as espécies na história evolutiva (Berns, 2020; Bunford et al., 2020).

Será por isso fácil de entender que a existência de massas tumorais (ou de outro tipo de lesões), resulta em déficits neurológicos e/ou comportamentais em função das áreas afetadas (Camps et al., 2023). A neuroimagem tem por isso uma contribuição muito importante no diagnóstico, monitorização e planeamento terapêutico, seja no estudo dos gliomas caninos ou dos glioblastomas humanos.

Embora seja evidente que existem diferenças técnicas na execução destes exames nas duas espécies, o uso da ressonância magnética (RM) é, em ambos os casos, o exame de eleição para a caracterização deste tipo de tumores cerebrais, fornecendo informações sobre a localização, extensão e características do tumor (Loeber, 2025; Dagher et al. 2024).

1.5.2 CARACTERÍSTICAS NEURORRADIOLÓGICAS DOS GLIOMAS CANINOS

A RM é a modalidade imagiológica principal para a aquisição de imagens do SNC, com intensidades de campo que variam entre 0,2 e 1,5 Tesla (T). O protocolo para realizar a avaliação neurorradiológica é tipicamente constituído por sequências que permitem a aquisição de imagens ponderadas em T2, em planos sagital, axial, e sequências ponderadas em T1, antes e depois da administração do meio de contraste. A aquisição de imagens pela sequência FLAIR, é fundamental para uma boa caracterização neurorradiológica das lesões tumorais, sendo adquirida principalmente em cortes transversais ou dorsais. A aquisição de imagens com a sequência GRE (*Gradient-Recalled Echo*) fornece informações complementares muito importantes, uma vez que possui uma elevada sensibilidade para detetar hemorragias, depósitos de ferro e calcificações, que podem ser observadas nas imagens e cuja característica principal é a ausência de sinal (*voids*), estas informações são por isso muito úteis para a classificação do tipo e do grau dos gliomas (José-López et al., 2021). As principais características e achados neuroimagiológicos do glioma canino num estudo baseado em 74 RM cerebrais descritos na literatura encontram-se na tabela 1.

Tabela 1. Características e achados em RM do glioma canino (n = 74), com o número de animais entre parêntesis (adaptado de José-López et al., 2021).

Critérios RM	Resultados
<i>Origem</i>	Intra-axial (72); extra-axial (2)
<i>Margens</i>	Mal definidas (25); lisas (44); irregulares (5)
<i>Forma</i>	Esférica ou oval/alongada (47); amorfa (24); lobulada (3)
<i>Sinal (intensidade T2)</i>	Hipointensa (3); iso-intensa (0); hiperintensa (71)
<i>Sinal (uniformidade T2)</i>	Homogénea (22); heterogénea (52)
<i>Sinal (intensidade T1)</i>	Hipointensa (60); isointensa (14); hiperintensa (0)
<i>Sinal (uniformidade T1)</i>	Homogénea (15); heterogénea (59)
<i>Sinal (intensidade FLAIR)</i>	Hipointensa (11); isointensa (0); hiperintensa (63)
<i>Sinal (uniformidade FLAIR)</i>	Homogénea (16); heterogénea (58)
<i>Ausência de sinal GRE</i>	Nenhuma (25); única (6); múltiplas (6); difusa (4)

<i>Grau de EC</i>	Nenhuma (19); leve (20); moderada (19); severa (16)
<i>Padrão de EC</i>	Nenhuma (19); focal (1); não uniforme (28); uniforme (8); anel parcial (7); anel completo (11)
<i>Estruturas quísticas</i>	Nenhuma (44); quisto (16); fluidos intratumorais (14)
<i>Edema peritumoral</i>	Nenhum (7); peritumoral (47); extenso (20)
<i>Efeito de massa</i>	Nenhum (3); leve (16); moderado (29); severo (26)
<i>Perda de sinal do LCR subaracnoide</i>	Sim (63); não (11)
<i>Desvio da linha média</i>	Sim (54); não (20)
<i>Distorsão ventricular</i>	Sim (68); não (6)
<i>Hérnias cerebrais</i>	Nenhuma (31); subfalcina (2); transtentorial (24); forame magno (19)
<i>Siringo-hidromielia</i>	Sim (24); não (50)
<i>Disseminação (estruturas cerebrais adjacentes)</i>	Nenhuma (22); glioma borboleta (3); padrão de crescimento gliomatose cerebri (5); descrição livre (44)
<i>Disseminação (contacto com a superfície cerebral)</i>	Sim (56); não (18)
<i>Disseminação (EC leptomeníngea)</i>	Sim (25); não (49)
<i>Disseminação (contacto ventricular)</i>	Sim (62); não (12)
<i>Disseminação (vias do LCR)</i>	Nenhuma (26); espaço subaracnoide (25); invasão ventricular (33); metástases por queda (8)
<i>Disseminação (outras estruturas)</i>	Nenhuma (60); penetração do osso (9); outras (descrição livre) (6)

1.5.3 CARACTERÍSTICAS NEURORRADIOLÓGICAS DOS GLIOBLASTOMAS HUMANOS

O protocolo de aquisição de rotina baseia-se nas sequências convencionais já referidas, aquando da descrição dos estudo em caninos (T1, T2, GRE, T2-FLAIR), sendo que, a utilização de sistemas de RM de 1.5 e 3 T permitem a utilização de sequências mais sofisticadas, como o contraste dinâmico (*Dynamic susceptibility contrast*, DSC-MRI), estudos de difusão por RM

(*Diffusion-weighted imaging*, DWI) e espectroscopia por RM (MR spectroscopy, MRS), úteis para uma caracterização mais precisa permitindo definir a extensão do tumor e a resposta ao tratamento com mais precisão. A perfusão por RM, por exemplo, mede o volume sanguíneo cerebral relativo (*relative cerebral blood volume*, rCBV), que se encontra frequentemente aumentado no glioblastoma de alto grau, e que podemos relacionar com a alta vascularização e permeabilidade da barreira hematoencefálica associada a estes tumores (Shukla et al., 2017).

A um nível mais avançado, a realização de RMf e a aquisição de imagem por tensor de difusão (DTI) são fundamentais para o mapeamento pré-cirúrgico, permitindo a identificação das áreas corticais eloquentes e a visualização da orientação e integridade dos tratos de substância branca visíveis nas imagens de tractografia. A obtenção desta informação é particularmente relevante para a realização do planeamento pré-cirúrgico com o objetivo de realizar a ressecção tumoral, onde a preservação da função neurológica é um ponto crítico. A informação dada pelos métodos de neuroimagem apoiam o médico neurorradiologista na distinção entre o tecido tumoral residual e os resultados que advêm da intervenção cirúrgica ou da radioterapia, como se pode observar no desenvolvimento de necrose induzida por radiação (Shukla, 2017). As características e achados em RM do glioblastoma humano encontram-se descritos na tabela 2.

Tabela 2. Características e achados em RM do glioblastoma humano (Shukla, 2017)

Crítérios RM	resultados
<i>Margens tumorais</i>	Mal definidas, indicando infiltração extensa do tecido cerebral adjacente.
<i>Forma macroscópica</i>	Heterogénea, frequentemente com áreas lobuladas ou irregulares.
<i>Realce de contraste (TICE)</i>	Realce periférico irregular, com áreas sem realce e centrais correspondentes a necrose.
<i>Intensidade de sinal (T2-FLAIR)</i>	Hiperintensidade extensa que representa edema vasogénico e infiltração tumoral.
<i>Efeito de massa</i>	Desvio da linha média e compressão das estruturas adjacentes.
<i>Edema peritumoral</i>	Associado a fatores angiogénicos e permeabilidade vascular elevada.

<i>Necrose central</i>	Área central hipointensa em T1CE, consistente com necrose isquêmica.
<i>Micro-hemorragias (GRE)</i>	Focos de sinal ausente ('voids') devido a produtos de degradação do sangue.
<i>Perfusão (DSC/DCE)</i>	Aumento do volume sanguíneo cerebral relativo nas áreas tumorais.
<i>Tratos de substância branca (DTI)</i>	Alterações na anisotropia fracionada e tratos deslocados/infiltrados.
<i>Espectroscopia (MRS)</i>	Aumento da colina e redução de NAA, indicando alta atividade tumoral.

Embora a neuroimagem dos gliomas caninos e glioblastomas humanos partilhe muitas semelhanças, existem diferenças importantes. Em medicina veterinária, a utilização de técnicas avançadas como RMf e DTI são menos comuns devido a limitações técnicas e financeiras. Em contraste, em medicina humana, estas técnicas são utilizadas de forma rotineira no diagnóstico (apesar da RMf não ser suficientemente rentabilizada, uma vez que requer uma equipa com treino específico tanto para a preparação do paradigma experimental, como para a aquisição de imagem e pós-processamento dos dados). Por exemplo, nos glioblastomas, a MRS é utilizada para identificar um aumento da colina e diminuição da N-acetilaspártato (NAA), permitindo uma caracterização bioquímica do tumor, contudo, em medicina veterinária, a aplicação da MRS é ainda muito limitada (a maioria das RM veterinárias possuem uma intensidade de campo magnético menor que 1.5 T).

Uma das principais diferenças entre o glioma canino e o GBM está relacionada com a resposta ao tratamento e com a avaliação de recidiva. Nos humanos, o conceito de pseudoprogressão, i.e., as alterações na imagem devem-se aos efeitos relacionados com o tratamento em vez do crescimento tumoral. Este fenómeno é frequentemente observado nos doentes com metilação do promotor da metilguanina-DNA metiltransferase (MGMT) e pode ser difícil de distinguir de uma verdadeira progressão, mesmo com recurso a RM (Kinslow., et al., 2023; Rodríguez-Camacho et al., 2022)

Apesar da RM ser uma modalidade de neuroimagem de eleição, a integração de métodos de análise quantitativa, como a radiômica, bem como a utilização da IA, aumentou a

nossa capacidade para desenvolver novos biomarcadores imagiológicos (Pereira., et al 2023). A implementação de abordagens imagiológicas multimodais, que combinam diferentes tipos de dados de imagem e técnicas de análise avançada, tem um enorme potencial para orientar novas estratégias terapêuticas personalizadas, aumentando a eficácia do tratamento e melhorando o prognóstico dos doentes (Shukla et al., 2017).

A neuroimagiologia continua a ser uma ferramenta fundamental na gestão de gliomas caninos e glioblastomas humanos. Com o atual crescimento do número de equipamentos, a par de um expectável aumento do investimento por parte de grupos veterinários com maior capacidade financeira, será possível assistir a uma crescente utilização das técnicas de imagem avançadas na prática clínica veterinária.

1.6 RADIÓMICA

1.6.1 PRINCÍPIOS E APLICAÇÕES

A análise de imagens médicas tem vindo a crescer de forma exponencial, desde o aparecimento da imagem digital, sendo a radiologia a especialidade que mais beneficiou do aparecimento desta nova tecnologia. Em plena revolução industrial 4.0 (digital), o aparecimento de novas técnicas e métodos de reconhecimento de padrões aumentou de forma exponencial, nesta área de investigação em (bio)medicina. Uma das principais consequências deste aumento é a produção de um grande número de dados (exames imagiológicos), facto que abriu as portas para o aparecimento de uma nova área de investigação, a radiómica.

A radiómica baseia-se na extração de uma grande quantidade de dados quantitativos a partir de imagens médicas, surgindo como uma promissora área de investigação biomédica para o desenvolvimento de ferramentas de apoio ao diagnóstico e à tomada de decisão clínica, contribuindo para o desenvolvimento da chamada medicina de precisão.

Esta nova abordagem das imagens médicas pertence a um ramo específico da ciência denominada por "ómicas" (genómica, proteómica, metabolómica). A radiómica procura transformar as imagens em dados mineráveis, permitindo a realização de uma análise das características que podem não ser visíveis ao “olho nu” (Gillies et al., 2016). Este novo método permite uma abordagem objetiva e quantitativa para a interpretação de imagens médicas, das

várias modalidades imagiológicas, com aplicações desde a oncologia até ao estudo das doenças neurodegenerativas e patologia inflamatória (Basran & Porter, 2022).

Historicamente, a interpretação de imagens médicas tem sido um processo subjetivo, dependente da experiência e da formação dos médicos radiologistas (Rogers et al., 2020). Contudo, com a evolução das tecnologias de aquisição e análise de imagens, a possibilidade de quantificar características específicas, como por exemplo a forma, a textura e a intensidade do pixel/voxel, permitiu o aparecimento de uma nova dimensão para o diagnóstico baseado na imagem. A radiômica tem um enorme potencial para aumentar a precisão diagnóstica, contribuindo para personalizar o tratamento e especialmente na medicina veterinária, onde a disponibilidade de dados surge como uma limitação (Bouhali et al., 2022).

1.6.2 EVOLUÇÃO DA RADIÓMICA

A radiômica surgiu como uma extensão das abordagens tradicionais de diagnóstico por imagem, que se baseavam principalmente na análise visual qualitativa (McCague., et al 2023). Nos últimos 30 anos, com os avanços da ciência da computação, do desenvolvimento de algoritmos de *Machine Learning*, bem como o aumento da capacidade de armazenamento de dados, tornou-se possível extrair um grande número de características quantitativas a partir das imagens médicas, permitindo a transformação das imagens num grande conjunto de dados (Qi., et al 2024; Rogers et al., 2020). A ideia central é que as imagens contêm informações que refletem os processos biológicos subjacentes e que estes dados podem ser estudados por meio de análises quantitativas (Gillies et al., 2016).

O processo associado a radiômica pode dividir-se em quatro etapas principais: 1) a aquisição e o pré-processamento de imagens, 2) a segmentação das regiões de interesse (ROI), 3) a extração de características radiômicas e 4) a análise dos dados (McCague et al., 2023). A aquisição e o pré-processamento são fases de extrema importância, uma vez que qualquer variação nos parâmetros de aquisição ou na qualidade da imagem pode influenciar os resultados quantitativos. A segmentação, que pode ser realizada manualmente, de forma semiautomática ou de forma totalmente automatizada, é um passo essencial para definir com precisão as áreas de interesse, uma vez que os erros nesta etapa podem introduzir importantes variações nos dados extraídos (Parmar et al., 2014). Após a segmentação, são extraídas características quantitativas das imagens (características radiômicas), que nos dão informações sobre a forma, a textura e a intensidade. A análise dos dados requerer frequentemente o uso de técnicas estatísticas

convencionais e/ou de *Machine Learning* para selecionar as características mais relevantes e construir modelos preditivos que auxiliem na tomada da decisão clínica (Mayerhoefer et al., 2020).

1.6.3 CLASSIFICAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS RADIÓMICAS

As características radiômicas são classificadas em diferentes categorias, cada uma fornecendo informações complementares sobre a região da imagem analisada. As características associadas a forma, por exemplo, fornecem dados sobre o volume, a superfície e a geometria de uma determinada região de interesse (ROI), e são frequentemente utilizadas para descrever a morfologia dos tumores. Já as características estatísticas de primeira ordem, baseiam-se na distribuição dos valores de intensidade dos pixels/voxels da imagem, permitindo a análise de várias métricas, tal como a média, a variância e os percentis de intensidade. O conjunto destas características permitem uma visão geral da imagem, uma vez que capturam informações globais sem levar em consideração a disposição espacial dos valores (Mayerhoefer et al., 2020; McCague., et al 2023).

Por outro lado, as características de textura, classificadas como sendo de segunda ordem, avaliam a distribuição espacial das intensidades dos voxels da imagem. Estas características podem recolher informação sobre a heterogeneidade interna de uma lesão, e obter dados muito importantes sobre a sua estrutura. Para quantificar a textura, utiliza-se frequentemente a matriz de coocorrência de nível de cinza (GLCM), um método que mede a frequência com que pares específicos de intensidades aparecem na imagem numa determinada disposição espacial (Rogers et al., 2020). O método GLCM é o mais utilizado nos estudos de radiômica e a análise que permite realizar é particularmente útil no campo da oncologia. Este método torna possível medir o grau de heterogeneidade tumoral, um indicativo de agressividade e muito importante para a definição de um prognóstico. Por fim, o último nível de informação que podemos obter para as características extraídas é denominada de ordem superior e envolvem o uso de filtros, ou seja, transformações matemáticas para colocar em evidência determinados padrões da imagem em estudo, e assim detectar variações estruturais (McCague et al 2023).

Van Griethuysen et al. (2017) desenvolveram um sistema computacional para análise radiômica, estando disponível na plataforma PyRadiomics. (<https://pyradiomics.readthedocs.io/en/latest/index.html>) uma vasta informação sobre a

definição das características radiômicas mais usuais. No caso deste estudo, será importante definir cada uma das seguintes características radiômicas: *JointEntropy*, *SumEntropy*, *SumAverage*, *JointAverage*, *SumSquares* e *Autocorrelation*

A *Joint Entropy* (Entropia Conjunta) mede a aleatoriedade ou a incerteza na distribuição conjunta dos níveis de cinza entre os pares de pixels, sendo que valores mais altos indicam uma maior desordem ou complexidade na textura da imagem. Esta característica radiômica é útil para distinguir as regiões com diferentes padrões de textura. A *Sum Entropy* (Entropia da Soma) avalia a entropia da distribuição das somas dos níveis de cinza dos pares de pixels, medindo a variabilidade na textura quando apresenta valores elevados. É frequentemente utilizada para identificar áreas com padrões texturais complexos ou heterogêneos (Van Griethuysen, 2017).

A *SumAverage* (Média da Soma) calcula a média das somas dos níveis de cinza dos pares de pixels, pondo em evidência a intensidade média combinada desses pares. Esta característica radiômica é importante porque permite diferenciar as regiões com diferentes brilhos médios ou contrastes dentro de uma imagem. A característica radiômica *Joint Average* (Média Conjunta) corresponde à média ponderada dos níveis de cinza considerando a distribuição conjunta dos pares de pixels na Matriz de Coocorrência de Níveis de Cinza (GLCM). Esta característica fornece uma medida da intensidade média, levando em conta a relação espacial entre os pixels, permitindo identificar pequenas variações de intensidade em texturas mais homogêneas (Van Griethuysen, 2017).

A *Sum of Squares* (Soma dos Quadrados), é a variância, e avalia a dispersão ou variação dos níveis de cinza em relação à média. Os valores mais altos desta métrica indicam maior contraste ou heterogeneidade na textura da imagem, e por isso é fundamental para identificar regiões com variações mais abruptas de intensidade, como por exemplo nas bordas ou detalhes mais finos de estruturas anatômicas ou de lesões (Van Griethuysen, 2017).

A *autocorrelation* (Autocorrelação) mede a correlação linear entre os níveis de cinza dos pixels em posições específicas, considerando a relação espacial estabelecida. A presença de valores mais elevados desta característica radiômica, sugerem uma repetição ou periodicidade na textura, i.e, a presença de padrões regulares ou estruturados, sendo uma métrica muito útil na análise de texturas com padrões cíclicos ou repetitivos (Van Griethuysen, 2017).

1.6.4 A RADIÓMICA EM MEDICINA VETERINÁRIA

Na medicina veterinária, a radiômica surge como uma ferramenta promissora para melhorar o diagnóstico, o prognóstico e a caracterização de várias patologias (Basran & Porter, 2022). Numa abordagem de *One Health/One Medicine*, os animais de companhia, como os cães e gatos, desenvolvem doenças muito semelhantes às dos humanos, como é o caso de certo tipo de cânceros, doenças cardíacas e alterações neurológicas. Esta similaridade faz destes animais excelentes candidatos para serem modelos naturais da doença. A aplicação da radiômica, torna-se desta forma, numa poderosa ferramenta para o desenvolvimento de novos biomarcadores (Basran & Porter, 2022).

Na oncologia veterinária, a radiômica pode ser utilizada para identificar tumores de forma não invasiva, distinguindo entre lesões benignas e malignas com base nas características de textura e forma extraídas das imagens. Por exemplo, a realização de estudos em doentes com cancro do pulmão em humanos mostrou que as características radiômicas, extraídas de imagens de tomografia computadorizada estão associadas ao estágio do tumor e à sobrevivência do doente, o que sugere que estes resultados sejam transacionáveis para doentes veterinários (Parmar et al., 2014). A avaliação da resposta ao tratamento é outra área em que a radiômica pode ter uma importante contribuição. A capacidade de caracterização e de monitorização das alterações morfológicas, associadas as características extraídas das várias imagens médicas ao longo do tempo permite avaliar a eficácia das intervenções terapêuticas realizadas, tais como a quimioterapia e radioterapia, podendo fornecer informação objetiva para orientar alterações no plano de tratamento.

Em alguns casos, este método pode ser integrado com outras modalidades, para a realização de estudos com dados provenientes da genómica e histopatologia, e potenciar uma abordagem conhecida, anos atrás, por radiogenómica, que tem por objetivo correlacionar as características das imagens médicas com perfis de expressão génica e descobrir novos biomarcadores preditivos (Gillies et al., 2016).

1.6.5 IMPLEMENTAÇÃO DA RADIÓMICA NA PRÁTICA CLÍNICA VETERINÁRIA

Apesar das promessas e do progresso contínuo, a aplicação prática da radiômica na medicina veterinária apresenta vários desafios. Um dos principais obstáculos é a variabilidade nos parâmetros de aquisição e reconstrução das imagens tomográficas, que pode influenciar de

uma forma muito significativa a reprodutibilidade e a comparação dos resultados. A existência de diferentes modelos de sistemas de RM, de protocolos de imagem ou mesmo variações no posicionamento do animal durante a aquisição, podem introduzir variações nos dados extraídos, o que dificulta a padronização necessária para a implementação clínica (Bouhali et al., 2022).

Na definição das ROIs, a segmentação manual das imagens pode ser uma fonte de variabilidade, uma vez que depende da habilidade manual e da experiência do investigador. A introdução de métodos automáticos, para a segmentação de estruturas anatômicas são fundamentais, para melhorar a consistência e reduzir o tempo de análise. As ferramentas que utilizam abordagens associadas a algoritmos de ML para segmentar automaticamente as ROIs ainda necessitam de otimização e validação para garantir a precisão em diferentes cenários e possibilitar a sua implementação na prática clínica (Parmar et al., 2014). Outro desafio importante é o pequeno tamanho das amostras nos estudos veterinários. A maioria dos projetos de investigação em radiômica envolve um conjunto de dados relativamente pequenos, o que limita a capacidade de generalização dos modelos preditivos desenvolvidos. A colaboração interinstitucional (absolutamente necessária) e a criação de grandes bancos de dados de imagens podem ajudar a superar esta limitação, permitindo a validação multicêntrica dos métodos e melhorar a robustez dos modelos preditivos (Scapicchio et al., 2021).

O futuro da radiômica na medicina veterinária está intimamente ligado aos avanços da inteligência artificial (IA). Esta tecnologia têm o potencial de melhorar a seleção de características radiômicas, e também de otimizar os modelos preditivos desenvolvidos, de forma a reduzir a necessidade da intervenção humana durante o processo de análise. A necessidade de padronização dos processos de aquisição e análise de imagens médicas, bem como o desenvolvimento de diretrizes específicas para a prática veterinária, será crucial para a implementação generalizada da radiômica na prática veterinária (Burti et al., 2024).

Uma estratégia de integração de dados radiômicos com outras fontes de informação, como por exemplo, a genômica e a histopatologia, surge como uma abordagem holística para a gestão de doenças em animais. O campo da radiômica associada a estudos genômicos, em particular, já demonstrou o seu potencial na medicina humana, e a sua adaptação para a medicina veterinária potencia o desenvolvimento de novas tecnologias (Gillies et al., 2016). A evolução contínua das tecnologias de imagem, nomeadamente a RM, e das técnicas de análise de dados, como a radiômica, desempenham um papel essencial no futuro da medicina

veterinária, contribuindo para o desenvolvimento de uma medicina de precisão e melhorar os cuidados com os animais, mas também permitindo a construção de pontes para uma verdadeira *One Medicine*.

1.7 IMAGEM POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA

1.7.1 PRINCÍPIOS FÍSICOS DE RM

A RM é uma modalidade importante na área de imagem médica que tem transformado significativamente o diagnóstico médico nas últimas décadas. Trata-se de um método não invasivo que oferece um contraste único (frequentemente intrínseco) entre tecidos biológicos, com uma resolução espacial relativamente alta. Estas características tornam a RM o método ideal para estudos *in vivo* que se concentram na anatomia e na função do cérebro. Este capítulo tem como objetivo introduzir os métodos de RM utilizados neste projeto, com o intuito de avaliar as variações tecidulares do cérebro em gliomas caninos e glioblastomas humanos.

A aquisição de imagens de RM baseia-se na excitação seletiva, por meio de pulsos de radiofrequência, de núcleos atômicos suscetíveis expostos a um campo magnético constante. Esta interação resulta na emissão de energia radiante pelos prótons ao retornarem ao estado energético inicial.

O núcleo dos átomos é composto por prótons e nêutrons que apresentam quantificação de energia, descrita por números quânticos específicos. Estas quantidades abstratas tendem a ser interpretadas utilizando exemplos clássicos, como o número quântico de *spin*, que parametriza o momento angular de uma partícula em rotação ao redor de um eixo que passa pelo seu centro. O *spin* do núcleo depende de sua composição específica. O momento angular resultante do *spin* é parametrizado por um número quântico, que varia em determinados valores e pode ser representado pela letra *I*. O valor de *I* depende do número de nucleões e pode ser inteiro, semi-inteiro (1/2, 3/2, etc.) ou zero. Para um núcleo (Geraldes e Gil, 2002):

- $I = 0$, se o número atômico (*Z*) e número de massa (*A*) forem números pares, como por exemplo: $^{12}_6\text{C}$, $^{16}_8\text{O}$.
- $I = \text{valores inteiros}$, se *Z* for ímpar e *A* for par, como por exemplo: $^{14}_7\text{N}$, ^2_1H .

- I = valores semi-inteiros, se A for ímpar, por exemplo: $I = \frac{1}{2}$ para: ${}^1_1\text{H}$, ${}^{13}_6\text{C}$, ${}^{15}_7\text{N}$, ${}^{19}_9\text{F}$, ${}^{31}_{15}\text{P}$ and ${}^{195}_{78}\text{Pt}$.

Na ausência de um campo magnético, a orientação dos momentos magnéticos nucleares individuais pode assumir qualquer direção no espaço de forma isotrópica. No entanto, a precessão é um fenômeno que ocorre sempre que um objeto em rotação é influenciado por um campo magnético externo, B_0 , gerando um momento que leva ao spin dos prótons (figura 6).

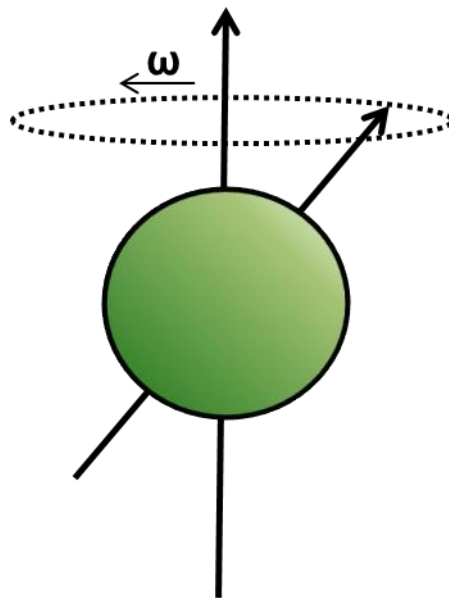


Figura 6. *Spin* nuclear.

O movimento de precessão do *spin* na presença do campo magnético externo B_0 . Esse movimento depende de uma frequência de Larmor específica (ω) (Faustino, 2020).

a rodar em torno de B_0 (figura 6). No entanto, os dipolos magnéticos dos prótons podem apresentar componentes longitudinais e transversais em relação a B_0 . Este movimento característico é chamado de precessão de Larmor. A precessão dos núcleos ocorre numa velocidade específica, proporcional à intensidade do campo magnético aplicado. A frequência de rotação é constante e depende apenas da espécie do núcleo e da intensidade do campo magnético. A equação a seguir mostra que a frequência de Larmor é diretamente proporcional à intensidade (B_0) do campo magnético (Faustino, 2020; Buxton, 2013):

$$\omega_0 = \gamma B_0 \quad [\text{equação 1}]$$

ou,

$$\nu_0 = \left(\frac{\gamma}{2\pi}\right)B_0 \quad [\text{equação 2}]$$

onde B_0 é a intensidade do campo magnético externo (medido em Tesla), ω_0 e ν_0 são, respectivamente, a velocidade angular e a frequência (esta última em megahertz, MHz) da precessão, e γ é a razão giromagnética (uma constante específica para cada núcleo), que depende apenas do núcleo em questão sob B_0

A razão giromagnética para prótons corresponde a $\gamma=42,58\text{MHz/T}$, resultando numa frequência de Larmor de 63,9 MHz e 128 MHz para campos magnéticos de 1,5 T e 3 T, respetivamente (campos magnéticos estáticos comumente usados em equipamentos de RM).

Quando expostos ao campo B_0 , os núcleos podem ser agrupados em duas populações (subníveis) nucleares de prótons (interação de Zeeman). As orientações que um momento magnético nuclear pode assumir sob um campo magnético externo B_0 estão alinhadas paralelamente ou antiparalelamente a este (Figura 7). Essas orientações possíveis apresentam dois níveis de energia: baixa e alta energia (para as orientações paralela e antiparalela, respetivamente), determinando, conseqüentemente, a magnetização nuclear. Numa situação de equilíbrio, a magnetização nuclear tem uma orientação paralela a B_0 , e seu valor, M_0 , é proporcional ao número de núcleos N e ao campo B_0 . (Faustino, 2020)

Na presença de B_0 , os *spins* apresentam comportamentos distintos: a orientação paralela corresponde ao estado de menor energia (*spin* para cima ou *spin up*), enquanto a orientação antiparalela corresponde ao estado de maior energia (*spin* para baixo ou *spin down*). A proporção (número) de *spins* orientados é proporcional à intensidade do campo magnético B_0 , de acordo com a estatística de Boltzmann. O equilíbrio térmico é alcançado quando o número de transições do estado de baixa energia para o de alta energia é igual ao número de transições do estado de alta energia para o de baixa energia (figura 7).

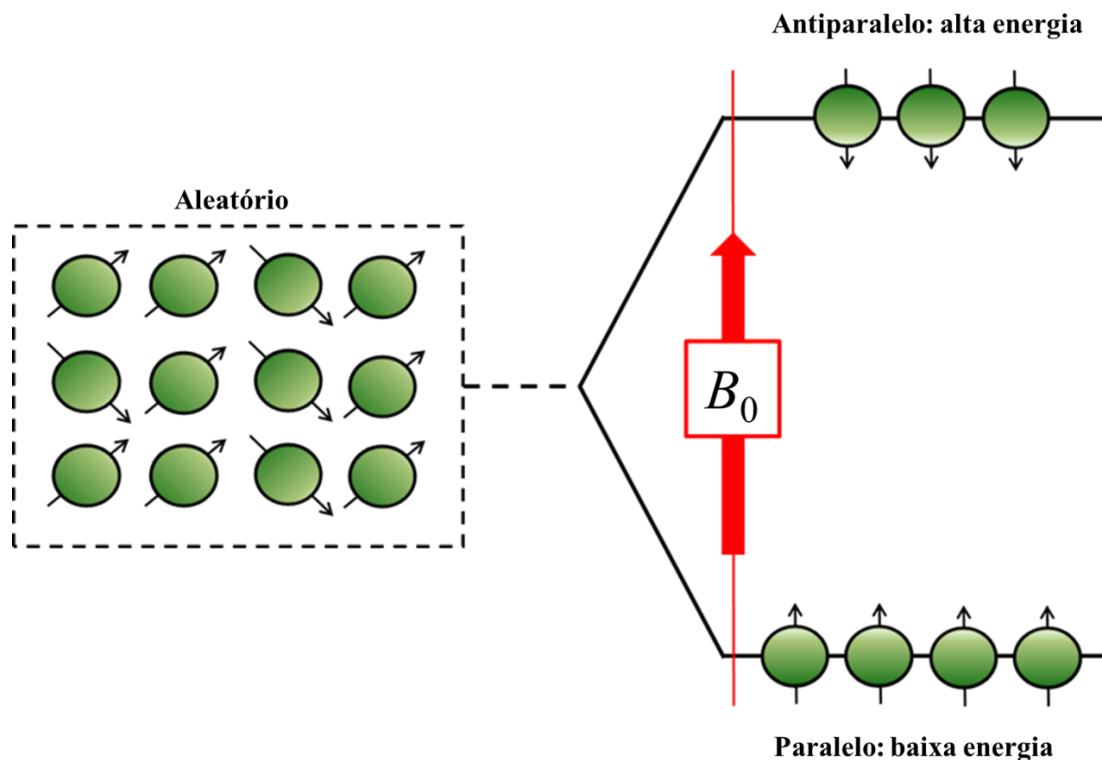


Figura 7. As duas possíveis orientações de *spin*, antiparalela e paralela.

Na presença de um campo magnético externo, os spins apresentam comportamentos diferentes consoante o nível de energia (a diferença de energia é proporcional a B_0). A orientação paralela corresponde ao nível de energia mais baixo (*spin up*), enquanto que a orientação antiparalela corresponde ao nível de energia mais elevado (*spin down*) (adaptado de Faustino, 2020).

O fenómeno de ressonância é descrito como a interação entre uma onda de radiofrequência (RF) e a precessão do *spin*. Este fenómeno pode ser dividido em duas fases distintas: uma primeira fase, denominada excitação, e uma segunda fase de relaxamento. O sinal utilizado para criar as imagens de RM resulta desta interação.

Um potente transmissor de rádio é capaz de gerar uma onda eletromagnética (com frequência igual à frequência de Larmor), que pode ser aplicada num sistema de *spins* estável através do posicionamento de bobinas; este fenómeno é conhecido como a condição de ressonância.

A excitação do sistema de *spins* (ou absorção de energia) provoca a magnetização transversal, em que a componente Z de M_0 é angulada por um pulso de 90° . Após o pulso, ocorre o relaxamento transversal e o sistema começa a retornar ao estado de equilíbrio. A magnetização longitudinal é angulada para o plano transversal (após a aplicação do pulso de RF), onde os *spins* rodam no plano M_{xy} em vez de no plano M_z .

Na presença de magnetização longitudinal, os *spins* rodam ou precessão em torno do eixo Z, o que induz um sinal alternado com a mesma frequência da frequência de Larmor na bobina receptora: o sinal de RM. A excitação dos spins é ilustrada na Figura 8.

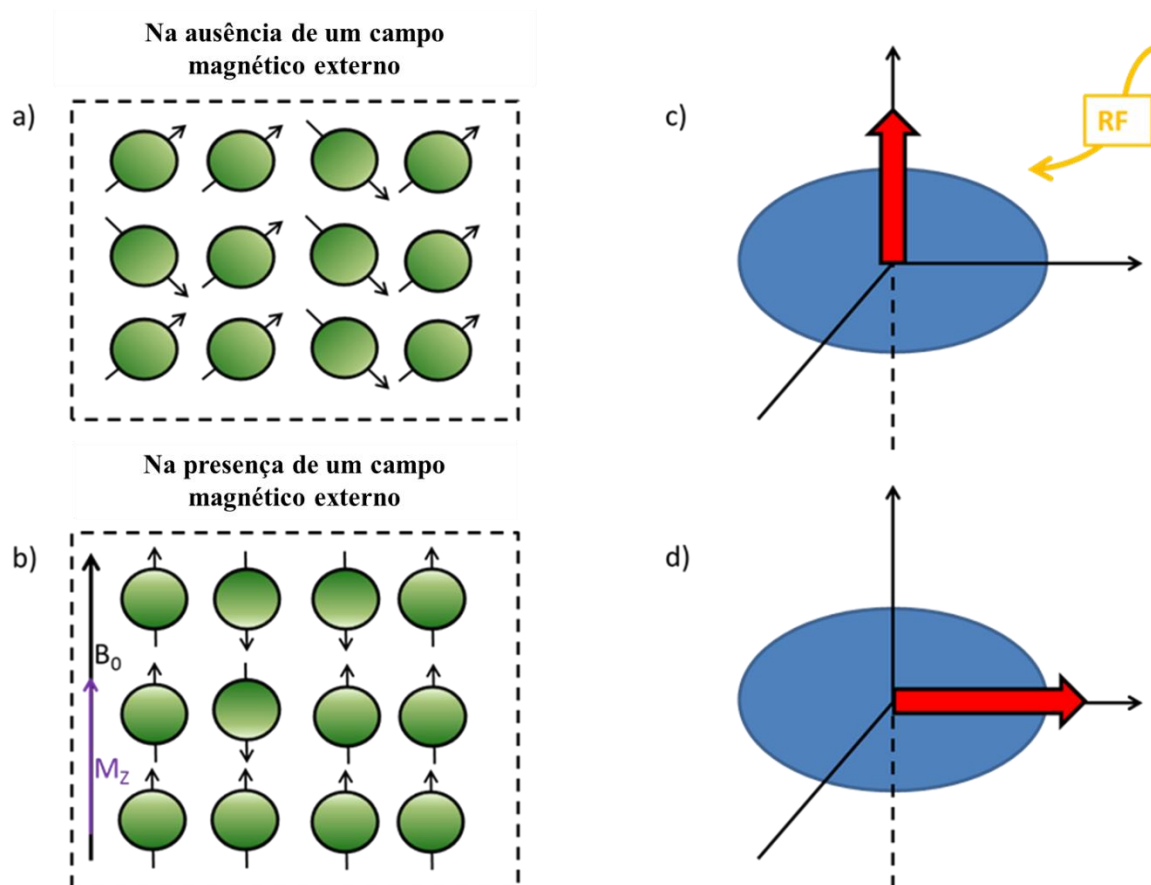


Figura 8. Excitação dos spins.

(a) ausência de campo magnético externo, onde os *spins* rodam aleatoriamente em torno dos seus eixos. (b) aplicação de um campo magnético, onde mais *spins* se alinham paralelamente a B_0 , produzindo magnetização longitudinal, M_z . (c) um pulso de RF angula o vetor de magnetização exatamente a 90° . (d) a magnetização longitudinal inverte-se e passa a rodar no plano transversal, M_{xy} (Adaptado de Faustino, 2020).

Decaimento de Indução Livre (*Free Induction Decay* - FID) refere-se ao sinal recebido pela bobina, e, no contexto da ressonância magnética de hidrogénio, possui as seguintes características:

- Oscilação com a frequência de Larmor e a intensidade do campo magnético aplicado.
- O FID apresenta uma magnitude inicial proporcional à densidade de prótons (núcleos de hidrogénio).

- A constante de tempo T2 conduz a uma diminuição exponencial da amplitude devido à relaxação *spin-spin*.

O relaxamento refere-se à libertação de energia dos prótons após a absorção do pulso de RF, por meio da recuperação da magnetização longitudinal original (T1) e do decaimento da magnetização transversal (T2). Este é um aspecto fundamental da ressonância magnética, assim como a absorção de energia, fornecendo o mecanismo primário para o contraste da imagem. A absorção de ressonância (pelos prótons) exige que o sinal de RF seja transmitido na frequência correta.

A distribuição de equilíbrio dos *spins*, paralelos e antiparalelos a B_0 , é perturbado pela energia adicional. Após a excitação, os prótons libertam esta energia adicional (fenómenos de relaxamento) e regressam ao estado original. Este processo é dependente do tempo e é descrito por uma constante de relaxamento (tempo de relaxamento).

Os tempos de relaxamento, conhecidos como T1 e T2, são medidos no contexto da dinâmica dos *spins*, apesar de serem os prótons individuais os responsáveis pela absorção de energia. Ambos os tempos de relaxação medem a energia transferida por um próton excitado, mas diferem quanto ao destino final dessa energia.

Nos princípios da RM de T1, também conhecido como tempo de relaxação *spin-lattice*, reflete a constante de tempo exponencial característica de cada tecido, relacionada com a magnetização longitudinal (M_z) a caminho do estado de equilíbrio (M_0). Mais precisamente, T1 corresponde ao tempo necessário para que M_z recupere 63% ($1 - 1/e$) do seu valor de equilíbrio (Figura 9), imediatamente após a aplicação de um pulso de excitação de 90°.

Este pulso é responsável por inclinar a magnetização longitudinal para o plano transversal e pode ser descrito pela seguinte equação (Rinck, 2003; Tavitian, 2007):

$$M_z = M_0 (1 - e^{-\frac{t}{T_1}}) \quad [\text{equação 3}]$$

Onde t corresponde ao tempo após o pulso de excitação. O T1 ocorre devido à transmissão de energia térmica entre os núcleos excitados e os elementos atômicos vizinhos. A eficiência do mecanismo de transferência de energia nas moléculas determinará um tempo de relaxação T1 mais curto (se o mecanismo for eficiente) ou mais longo.

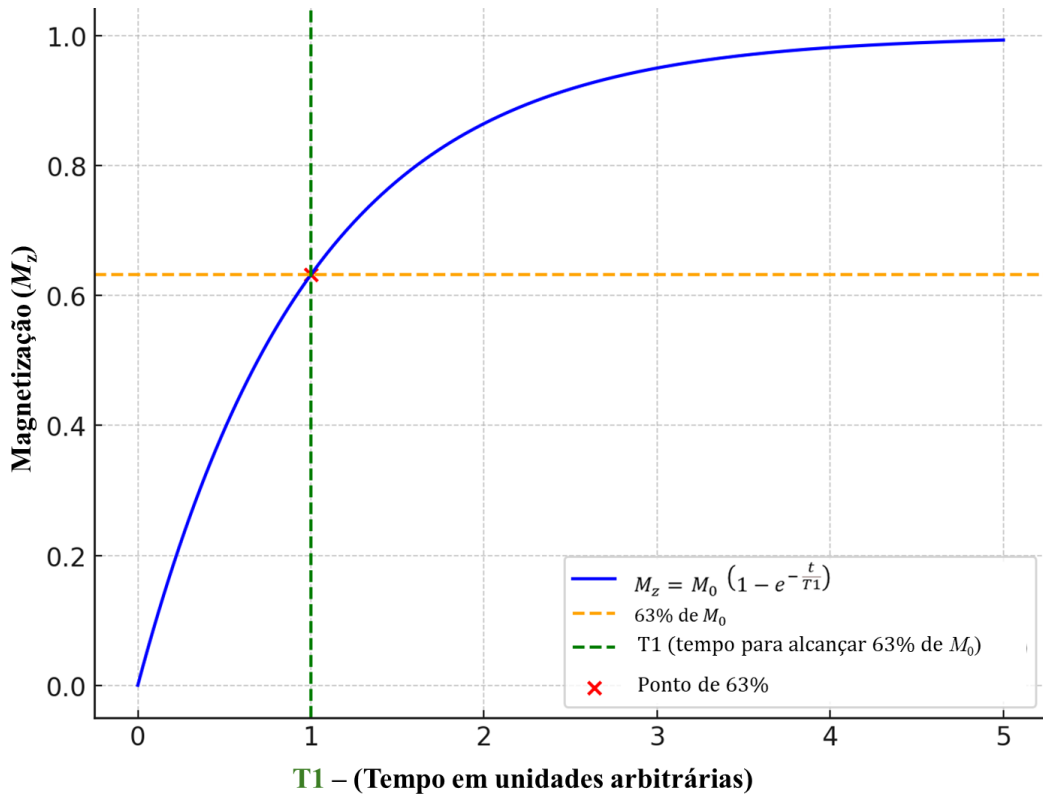


Figura 9. Curva de recuperação de T1.

Após um pulso de excitação de 90° , o tempo necessário para que a magnetização longitudinal recupere 63% do seu valor de equilíbrio é representado pela constante de relaxamento de T1.

A aplicação de um pulso de RF inclina a magnetização longitudinal para o plano transversal, criando uma magnetização transversal. Após a interrupção do pulso de RF, a magnetização transversal decai até zero, sendo este fenómeno descrito pela constante de tempo T2 (Figura 10) e detalhado na seguinte equação (Tavitian, 2007):

$$M_{xy(t)} = M_{xy(0)} \cdot e^{-\frac{t}{T2}} \quad [\text{equação 4}]$$

Onde t indica o tempo imediatamente após o pulso de excitação, e M_{xy} representa o tempo necessário para dissipar 63% da magnetização transversal inicial.

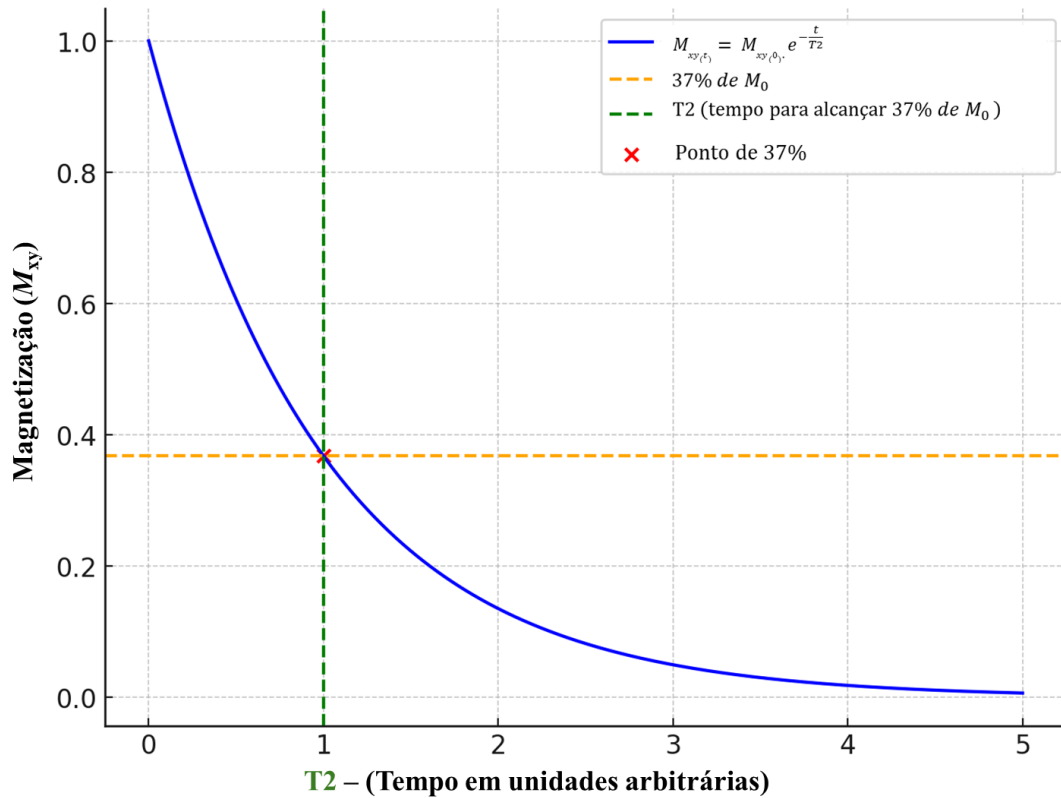


Figura 10. Ilustração gráfica da curva de decaimento T2.

O tempo necessário para que a magnetização transversal decaia para 37% do seu valor inicial é representado pela constante de relaxamento de T2, que é mais curta do que T1.

A coerência transversal em relação a M diminui devido a várias causas, sendo uma delas associada aos movimentos moleculares dos *spins* adjacentes.

Quando os prótons estão sob a influência de um campo magnético, observa-se uma perda de coerência de fase transversal. A não uniformidade de B_0 surge de três fontes:

1. Inhomogeneidade do campo principal: B_0 apresenta uma não uniformidade (constante durante o tempo de medição) causada por imperfeições na produção do ímã e por interações com fontes metálicas ou paredes de edifícios próximas.
2. Inhomogeneidade induzida pela amostra: Tecidos em contacto com diferentes suscetibilidades magnéticas ou graus de polarização magnética conseguem alterar o campo magnético local, principalmente nas suas interfaces. Com uma amostra estática, este fenómeno possui uma magnitude constante enquanto permanecer dentro do ímã.
3. Gradiente de imagem: Permite a localização espacial e cria uma inhomogeneidade transitória durante a medição, que provoca o desfasamento dos prótons.

Posteriormente, observa-se uma diminuição mais rápida do que o normal no sinal de ressonância magnética, devido à contribuição de T2 com uma constante de decaimento T2*.

Para produzir uma imagem, é necessário combinar pulsos de RF com gradientes de campo magnético (para seleção de cortes e codificação espacial). O ajuste destes dois fatores, bem como o tempo de atraso, permite a manipulação da magnetização transversal e longitudinal e, conseqüentemente, a possibilidade de obter um contraste específico na imagem, aproveitando as diferentes constantes T1 e T2 para diferentes tipos de tecidos (indicadas abaixo).

De forma geral, para a aquisição de dados que irão formar uma imagem, é necessário repetir um certo número de seqüências de pulsos. O tempo para um ciclo completo de uma seqüência de pulsos é denominado tempo de repetição (TR).

Na RM, o eco de spin (SE, do inglês *spin echo*) é uma das seqüências de pulsos de RF mais utilizadas. A seqüência de pulsos SE pode ser descrita como um pulso de excitação de 90° seguido por um pulso de reorientação de 180°, e posteriormente por um eco. Estes mecanismos constituem a base para as imagens ponderadas em T1, T2 e densidade de protônica (PD, do inglês *proton density*). Um SE é obtido quando, no tempo τ , após a aplicação de um pulso de RF de 90°, ocorre o desfasamento de alguns núcleos de hidrogénio (*spins*) devido à inhomogeneidade do campo B_0 . Quando um pulso de RF de 180° é aplicado, os *spins* passam a precessar na direção oposta. A inhomogeneidade do campo B_0 permanece; contudo, devido à inversão da direção de precessão, os *spins* voltam a ficar em fase em vez de se desfasarem. Assim, a magnetização transversal é refocada, com recuperação total a ocorrer no tempo 2τ .

É importante destacar que a seqüência SE não compensa os efeitos de T2 (interações *spin-spin*), e a amplitude do eco continua a decair exponencialmente com a constante de tempo T2. Na seqüência SE, o tempo necessário para o refoco total (2τ) é designado como tempo de eco (TE), e o tempo entre os pulsos de 90° é designado como TR. Caso sejam utilizados mais de um pulso de 180°, é possível obter mais de um eco.

Para adquirir imagens por ressonância magnética com contraste otimizado, é essencial controlar e otimizar os parâmetros temporais, como o tempo de eco (TE) e o TR. O TR é o tempo entre dois pulsos de excitação de RF, mas também pode ser entendido como a duração do período de relaxamento entre os pulsos de RF. Por isso, o TR é crucial para o contraste T1 das imagens. Com um TR longo, os núcleos de hidrogénio (*spins*) ficam em rotação novamente

no plano z, o que explica o regresso da magnetização longitudinal. Com um TR curto, o contraste da imagem em T1 muda drasticamente, pois os tecidos relaxam rapidamente, contribuindo para um sinal elevado após o próximo pulso de RF. A manipulação do TR permite controlar o nível de ponderação T1 na imagem por RM.

O contraste em imagens por RM do cérebro depende das diferenças nas propriedades físicas entre os vários tipos de tecidos, e, conseqüentemente, das diferentes constantes de tempo T1 e T2. Ao selecionar cuidadosamente os parâmetros chave de aquisição, TR e TE, é possível não só garantir que o sinal adquirido (ou FID) é mais influenciado pelo decaimento T1 ou T2, mas também realçar as diferenças de sinal entre os tecidos. Por exemplo, como a constante T1 para a substância cinzenta (SC) é maior (ou seja, a recuperação é mais lenta) do que para a substância branca (SB), é possível escolher o TR de forma a maximizar essa diferença de sinal, resultando numa imagem ponderada em T1, na qual o sinal da SC é mais baixo do que o da SB. De forma semelhante, como o líquido cefalorraquidiano (LCR) apresenta um T1 relativamente maior do que tanto a SC quanto a SB, o seu sinal durante a aquisição é baixo, sendo, portanto, exibido como preto nas imagens ponderadas em T1 (Figura 11).

No entanto, as imagens ponderadas em T2 são o oposto das imagens ponderadas em T1 (Figura 12), neste caso, o TE pode ser ajustado para diferenciar de forma ideal os diferentes tecidos. A constante T2 elevada do LCR traduz-se num tempo de relaxamento baixo e, conseqüentemente, num sinal elevado.

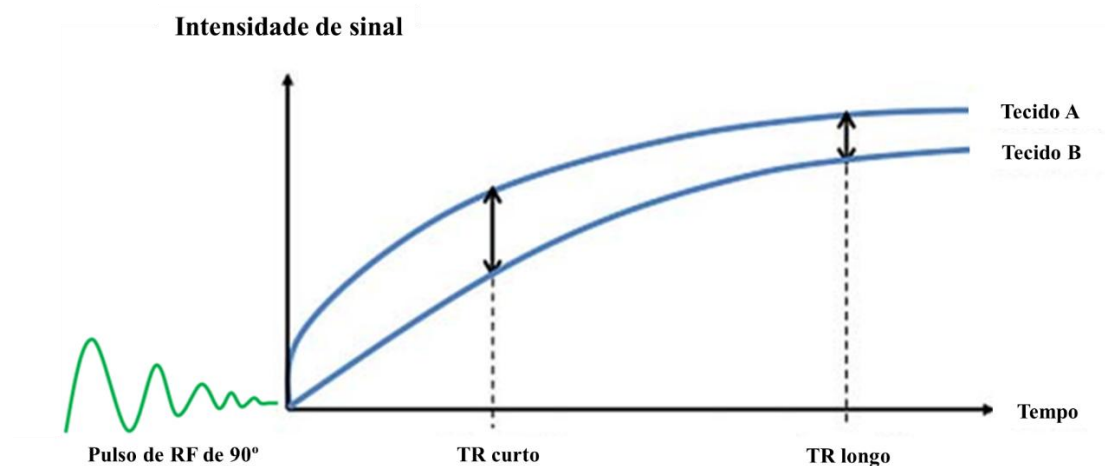


Figura 11. Representação gráfica da correlação entre TR e contraste T1.

Quando um TR curto é aplicado a um tecido com T1 curto, ocorre uma magnetização longitudinal elevada, resultando num sinal de RM elevado. Contudo, num tecido com T1 longo, o resultado é oposto (diferença de sinal de RM pequena). Se o TR aplicado for longo, não existem diferenças significativas no sinal, essencialmente porque o intervalo é suficientemente longo para o regresso da magnetização longitudinal em ambos os tecidos. (Adaptado de Currie, 2012).

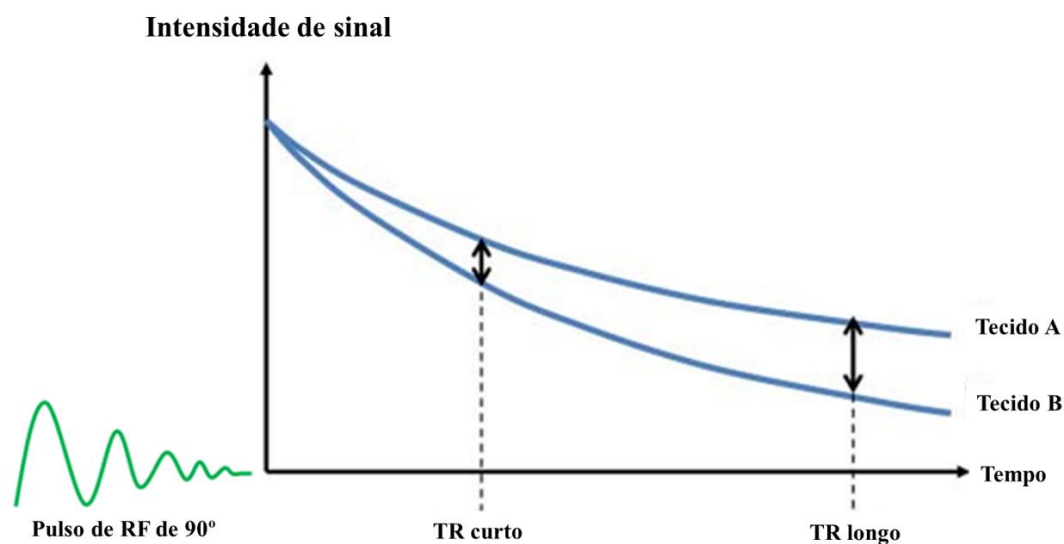


Figura 12. Representação gráfica da relação entre TE e contraste T2.

No caso de um TE curto, o sinal produzido não apresenta diferenças entre dois tecidos com tempos de T2 diferentes. Por outro lado, com um TE longo, num tecido com T2 curto, o sinal torna-se escuro (devido a uma perda rápida de sinal), enquanto que num tecido com T2 longo, é possível observar um sinal brilhante e diferenciado. (Adaptado Currie, 2012).

Numa imagem ponderada em densidade de protónica (PD), o contraste deve-se principalmente às diferenças no número de prótons de hidrogénio nos tecidos (densidade de

protônica). Os efeitos de T1 e T2 podem ser reduzidos ao selecionar um TR longo para T1 e um TE curto para T2 (Figura 13). Em tecidos com um número reduzido de prótons, as imagens apresentam-se escuras, uma vez que uma densidade de prótons baixa resulta numa componente de magnetização transversal reduzida, produzindo um sinal hipointenso. O oposto ocorre em tecidos com alta densidade de prótons, nos quais o sinal é hiperintenso, devido a uma grande componente de magnetização transversal.

As características de uma imagem PD com sinal elevado podem ser observadas no líquido cefalorraquidiano (LCR), líquido sinovial, sangue com fluxo lento, infecções, edemas, quistos e gordura. Por outro lado, imagens com sinal PD baixo ou ausente são observadas em ar, sangue com fluxo rápido, tendões, osso cortical, tecido cicatricial e calcificações. Para obter imagens ponderadas em PD, é necessário utilizar um TR longo, na ordem dos 4000 ms, e um TE curto, na ordem dos 20 ms, de forma a minimizar o contraste das imagens T1 e T2, resultando numa imagem com contraste PD (Geraldes e Gil, 2002; Rinck, 2003; Schild, 1990; Tavitian et al., 2007).

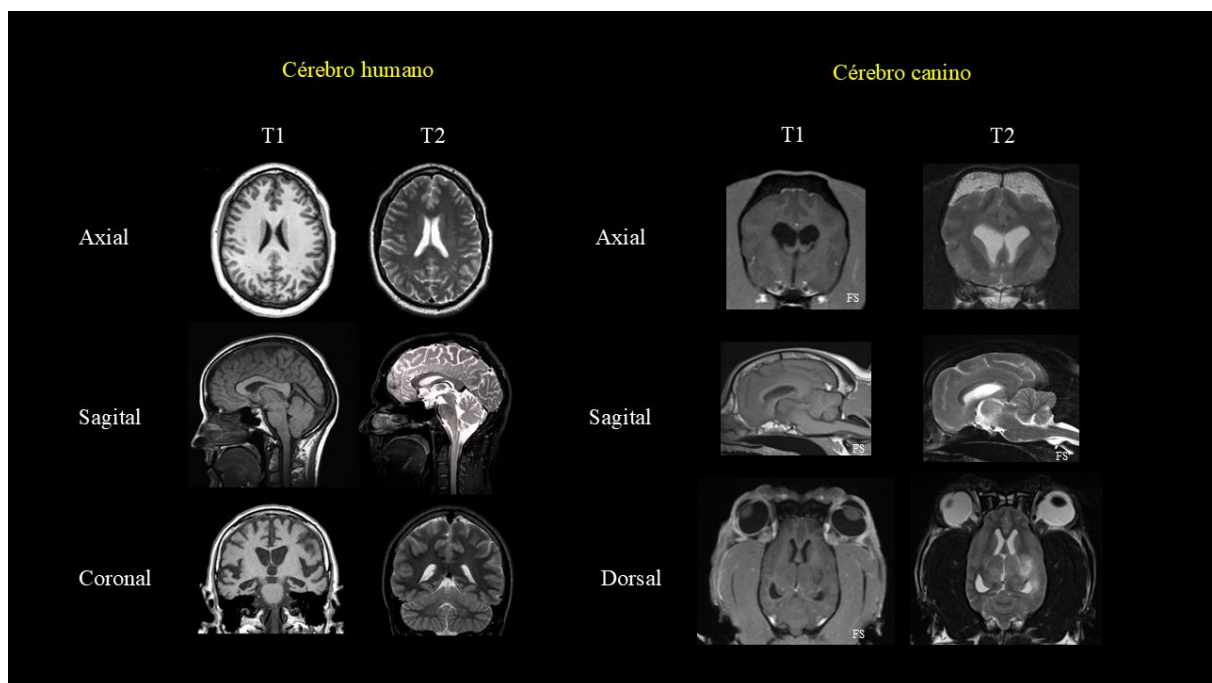


Figura 13. Imagens de RM cerebral do Cão e do Homem.

Nesta figura, podem ser observados os três diferentes contrastes básicos das imagens de RM cerebral: imagens ponderadas em T1 e T2. As imagens estão organizadas de forma a mostrar as diferenças de contraste entre os três planos anatómicos: axial, sagital e coronal em humanos e axial, sagital e dorsal em cães (adaptado de Faustino, 2020).

1.7.2 LOCALIZAÇÃO ESPACIAL

A codificação do sinal emitido permite que a posição espacial dos núcleos contribua para a localização do sinal durante o processo de reconstrução da imagem. Durante a aquisição de imagens, o uso de conjuntos de gradientes de campo magnético codifica espacialmente o sinal. O uso de bobinas de gradiente (mais fracas que o campo magnético estático) possibilita a sobreposição de um gradiente de campo magnético e, conseqüentemente, permite a variação do campo magnético. Existem três tipos de bobinas de gradiente, cada uma com a capacidade de formar uma variação linear no campo estático ao longo de um dos eixos x, y e z. Conseqüentemente, o gradiente produzido corresponde a G_x , G_y e G_z , respectivamente. É possível gerar um gradiente linear em qualquer direção ao combinar gradientes ao longo de vários eixos simultaneamente, permitindo a aquisição de imagens em qualquer orientação. A frequência de Larmor possibilita a determinação da posição do *spin* ao longo da direção de um gradiente aplicado. O processo de aquisição de imagem envolve quatro etapas principais:

1. Seleção de corte
2. Codificação espacial
3. Leitura do sinal
4. Reconstrução da imagem

Seleção de corte – a localização da seleção de corte ou região de interesse é possível devido à aplicação de gradientes lineares de campo magnético ao longo dos três eixos (x, y e z). Dois fatores controlam a espessura de corte: a amplitude dos campos magnéticos que afetam a distribuição espacial das frequências de ressonância dos núcleos de hidrogénio e a largura de banda do pulso de RF, ou o intervalo de frequências presentes no pulso, determinam a espessura de corte.

Codificação Espacial – a segunda etapa na formação da imagem consiste na identificação das coordenadas (posição) dos núcleos de hidrogénio dentro do corte selecionado. Para este efeito, é necessário aplicar dois gradientes distintos, G_y e G_x , da seguinte forma: o primeiro na direção de codificação de fase (direção y) e o segundo na direção de codificação de frequência (direção x). Quando ambos os gradientes são aplicados, as frequências nas direções x e y variam espacialmente. O uso destes gradientes é fundamental para o cálculo da transformação inversa de Fourier bidimensional necessária para reconstruir a imagem.

Leitura do Sinal – após a codificação de fase, o sinal é lido (os *spins* com diferentes coordenadas emitem sinais com diferentes valores de frequências de Larmor), e um gradiente de codificação de frequência é aplicado. Consequentemente, a posição do *spin* pode ser calculada a partir da frequência do sinal quando o gradiente de leitura é ativado.

Reconstrução da Imagem – para gerar as imagens por RM, é necessário preencher o espaço k bidimensional (2D k-space); assim, este processo deve ser repetido sucessivamente várias vezes com diferentes valores do gradiente de codificação de fase (GP). O espaço k contém os dados que correspondem à representação em frequência da imagem por RM. A técnica mais comum é a imagem por transformação de Fourier bidimensional (2D-FT); contudo, também é possível utilizar a imagem por transformada de Fourier tridimensional (3D-FT)

1.8 PRINCÍPIOS FÍSICOS FLAIR

A sequência FLAIR, originalmente denominada por *Fluid-Attenuated Inversion Recovery* (FLAIR), foi desenvolvida no início da década de 90 no *Hammersmith Hospital* em Londres, por um equipa liderada pelos investigadores Graeme Bydder, Joseph Hajnal e Ian Young (figura 14). As primeiras aquisições de imagens ponderadas em FLAIR, usavam valores de tempo de inversão (TI) de 2000-2500 ms para conseguir anular o sinal do LCR, para além de utilizar tempos de repetição (TR) de 8000 ms e de tempos de eco (TE) de 140 ms (Hajnal et al., 1992).

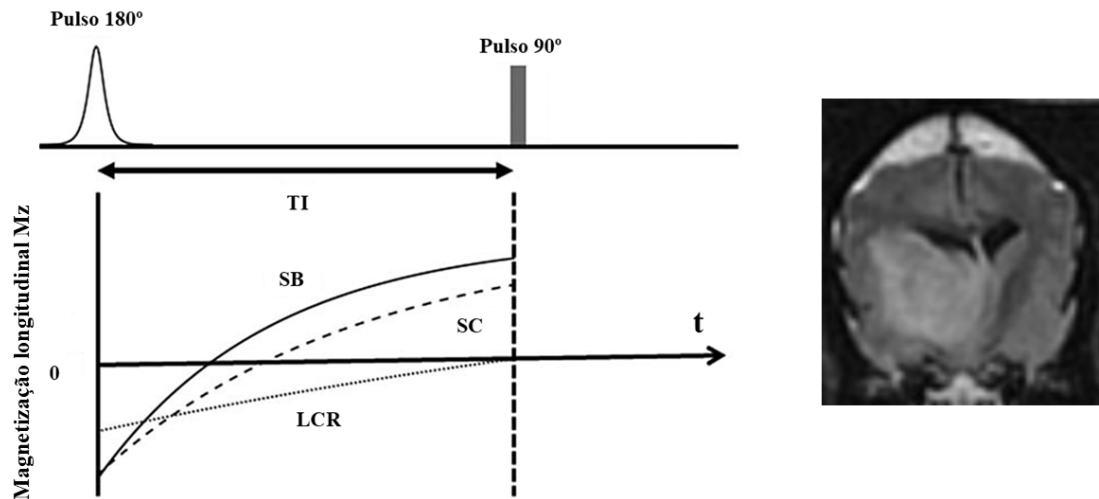


Figura 14. Esquema da sequência FLAIR.

O tempo de inversão (TI) é calculado de forma que o sinal do LCR (linha pontilhada) seja anulado no momento do pulso de excitação de 90°. Nesta imagem é possível observar um corte axial do cérebro canino, com hipersinal da lesão tumoral responsável pelo efeito de massa, bem como as curvas da substância branca (SB), substância cinzenta (SC), líquido cefalorraquidiano (LCR) e indicação do tempo de inversão (TI), em que “t” é o tempo (Adaptado de Saranathan, 2017).

A sequência FLAIR é uma variante da sequência utilizada nas imagens ponderadas em T2, na qual se aplica uma técnica de inversão-recuperação (IR). No início aplica-se um pulso de inversão responsável pela inversão da magnetização dos *spins* de hidrogénio, após o qual ocorre um tempo de recuperação (TI - *inversion time*) responsável por anular o sinal do LCR quando o pulso de excitação é aplicado. O tempo de recuperação que é usado permite que a magnetização longitudinal do LCR atravessasse o ponto zero no preciso momento em que a sequência de imagem é adquirida (Garrett et al., 2017). Este mecanismo de supressão é fundamental para que se possa visualizar e identificar as lesões localizadas em áreas onde o LCR poderia dissimular a presença das lesões por ambas serem hiperintensas (Pope, 2018; Saranathan et al, 2017).

1.8.1 APLICAÇÕES CLÍNICAS DA SEQUÊNCIA T2-FLAIR

As características físicas da sequência T2-FLAIR, são uma mais-valia, não só para a prática clínica, mas também no âmbito de projetos de investigação, que justificam a sua escolha para o estudo de gliomas e glioblastomas. Esta sequência permite a observação do edema peritumoral, e, nos gliomas, a presença de edema vasogénico, que representa um achado imagiológico muito frequente, caracterizado pela presença de uma importante hiperintensidade das áreas afectadas.

A capacidade de discriminar estas áreas permite o delineamento da extensão do envolvimento tumoral, para além das áreas cerebrais com realce de contraste nas imagens ponderadas em T1, contribuindo para uma avaliação neuroimagiológica mais rigorosa da extensão da lesão tumoral (Carrete et al., 2022). O aumento do contraste entre lesão tumoral e o restante tecido cerebral, facilita a definição das ROIs, permitindo uma segmentação mais precisa do volume da lesão tumoral.

Nos gliomas de baixo grau ou nas lesões que apresentam uma menor captação de contraste, a sequência T2-FLAIR permite identificar regiões hiperintensas que não seriam visíveis nas imagens ponderadas em T1 pós-contraste. As áreas de infiltração tumoral difusa, são um bom exemplo, e exibem sinais mais elevados nas imagens ponderadas em T2-FLAIR por causa da maior quantidade do conteúdo de água no tecido afetado (Sadeghi, 2017). O T2-FLAIR é por isso fundamental para uma avaliação das lesões cerebrais que, de outra forma, poderiam ser desprezadas.

Em medicina humana, esta sequência é também muito utilizada para avaliar a resposta a terapêutica em doentes com glioblastoma. Na sequência das sessões de radioterapia, podemos observar um aumento do sinal em T2-FLAIR, que pode simular uma progressão tumoral, quando na verdade esta elevação pode se relacionar com uma possível pseudoprogressão, i.e., uma alteração transitória que resulta do tratamento (Garrett et al., 2017). Por estes motivos, a sequência T2-FLAIR é recomendada pelas diretrizes de neuro-oncologia para o seguimento de doentes que estejam a realizar tratamentos multimodais (Villanueva-Meyer et al., 2017).

II. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

A abordagem metodológica para a realização deste estudo baseou-se na utilização de técnicas de segmentação para isolar as lesões tumorais visíveis nas imagens de RM, na volumetria cerebral e tumoral e na extração de características radiômicas pelo método GLCM, tendo sido realizado uma análise estatística para avaliar a capacidade de discriminação entre tecidos tumorais e sem evidência de lesão.

2.2 SELEÇÃO DE CASOS (AMOSTRAS CANINAS E HUMANAS)

O conjunto de dados utilizado neste estudo foi obtido no *The Cancer Imaging Archive* (TCIA).

A coleção ICDC-Glioma (<https://www.cancerimagingarchive.net/collection/icdc-glioma/>), do *Frederick National Laboratory for Cancer Research* composta por dados de 81 cães diagnosticados com glioma, e a coleção de dados da UPenn-GBM, composta por 630 doentes com glioblastoma humano, proveniente da *University of Pennsylvania* (<https://www.cancerimagingarchive.net/collection/upenn-gbm/>), compõem a coleção de dados utilizada para a realização da caracterização radiômica e neuroimagiologia comparada deste estudo.

Para este estudo, foram selecionados 39 doentes, sendo 23 de gliomas caninos e 16 de glioblastomas humanos, submetidos a análise volumétrica das imagens ponderadas em T1 por possuir uma melhor discriminação da SC e SB. Dos 23 cães só 16 foram retidos para a análise radiômica das imagens T2-FLAIR (restantes foram excluídos por não serem estudos cerebrais ou não terem as imagens de T2-FLAIR necessárias). No total selecionaram-se 31 doentes (cães, $n = 15$; humanos, $n = 16$) para realizar a extração de dados e análise radiômica (tabelas 3, 4 e 5).

Tabela 3. Dados demográficos da amostra canina para análise radiômica.

<i>Raça</i>	<i>n (%)</i>	<i>Sexo</i>	<i>n (%)</i>	<i>Média da idade (desvio padrão)</i>
<i>Boxer</i>	4 (26,67)	<i>Macho</i>	10 (66,67)	8,57 (2,17)
<i>Boston Terrier</i>	6 (40)	<i>Fêmea</i>	5 (33,33)	8,86 (2,20)
<i>Labrador Retriever</i>	2 (13,33)			
<i>Raça cruzada</i>	2 (13,33)			
<i>Yorkshire Terrier</i>	1 (6,67)			
<i>Total</i>	15 (100)		15 (100)	8,73 (2,17)

Tabela 4. Dados demográficos da amostra canina para análise volumétrica.

<i>Raça</i>	<i>n (%)</i>	<i>Sexo</i>	<i>n (%)</i>	<i>Média da idade (desvio padrão)</i>
<i>Boxer</i>	6 (26,11)	<i>Macho</i>	15 (65)	8,32 (2,34)
<i>Boston Terrier</i>	7 (30,43)	<i>Fêmea</i>	8 (35)	8,48 (2,44)
<i>Labrador Retriever</i>	2 (8,7)			
<i>Raça cruzada</i>	4 (17,4)			
<i>Yorkshire Terrier</i>	1 (4,34)			
<i>Bulldog Francês</i>	1 (4,34)			
<i>Staffordshire Bull Terrier</i>	1 (4,34)			
<i>Bulldog</i>	1 (4,34)			
<i>Total</i>	23 (100)		23 (100)	8,43 (2,36)

Tabela 5. Dados demográficos da amostra humana para análise radiômica.

<i>Género</i>	<i>n (%)</i>	<i>Média da idade (desvio padrão)</i>	<i>Dias de sobrevida após cirurgia</i>
<i>Masculino</i>	12 (75)	57 (12,38)	756 (615,59)
<i>Feminino</i>	4 (25)	54,03 (12,08)	832,55 (678,64)
<i>Total</i>	16 (100)	56,97(11,69)	740,44(589,45)

Os critérios para a inclusão de ambas as coleções de dados, foram a presença de confirmação histopatológica para o tipo de tumor, bem como a garantia da qualidade das imagens de RM. nomeadamente das imagens ponderadas em T2-FLAIR, fundamental para uma precisa segmentação das regiões de interesse e essenciais para a extração e análise das características radiômicas.

2.3 SEQUÊNCIAS DE RM PARA VOLUMETRIA E CARACTERIZAÇÃO RADIÔMICA

Entre as várias sequências de RM, as imagens T2-FLAIR, tem por principal característica a supressão do sinal do líquido cefalorraquidiano (LCR), garantindo um elevado contraste entre as lesões e o tecido cerebral envolvente. No contexto da neuroimagiologia oncológica, esta sequência de RM é muito útil uma vez que permite visualizar as áreas de edema e de infiltração tumoral, onde existe maior conteúdo de água pela presença de edema vasogénico (Pons-Sorolla et al., 2022). Por facilitar a visualização da delimitação da massa tumoral nos gliomas caninos e glioblastomas humanos, esta sequência foi escolhida para a realização deste projeto, garantido uma segmentação, e extração de características radiômicas com maior precisão (figura 15).

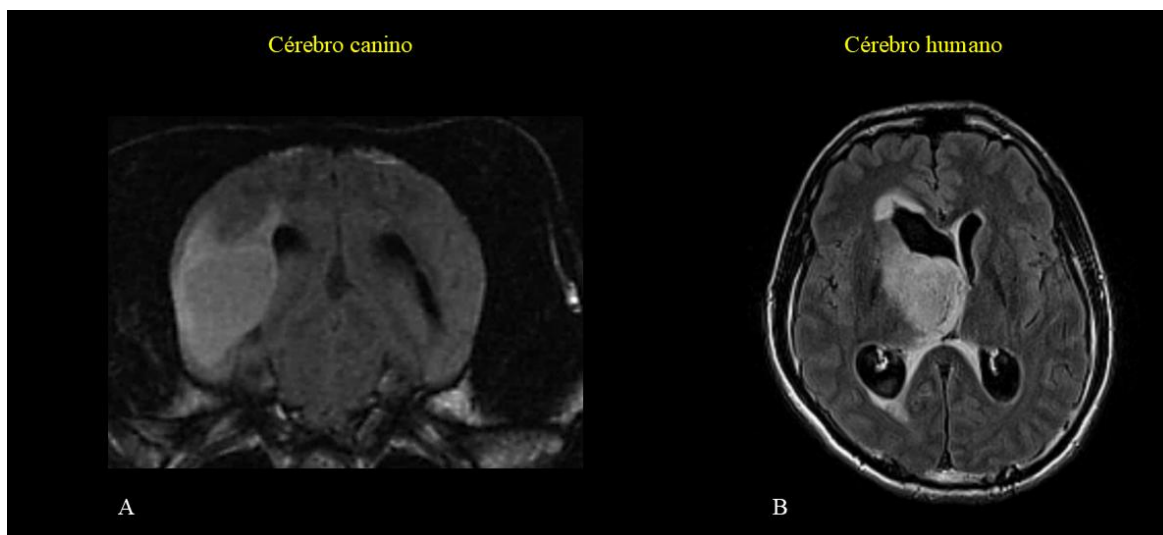


Figura 15. Neuroimagiologia comparada do glioma canino e glioblastoma humano.

A) corte axial de um cérebro canino com extensa lesão tumoral, com hiperintensidade característica em T2-FLAIR, localizada no hemisfério cerebral direito, na qual se pode verificar as semelhanças com o respetivo corte axial em b) de um doente com glioblastoma humano caracterizado no presente estudo.

2.4 SEGMENTAÇÃO E ANÁLISE VOLUMÉTRICA

As imagens de RM em formato DICOM (*Digital Imaging and Communications in Medicine*) foram carregadas na estação de trabalho *Syngo.via* (Siemens Healthineers), na qual se usou o *workflow* dedicado *MR Neurology* para visualização e pós-processamento de dados neuroimagiológicos. Nesta primeira fase, todos os exames foram visualizados para uma primeira avaliação neurorradiológica, de forma a garantir a integridade dos dados, nomeadamente a sua qualidade pela ausência de artefactos.

A segmentação, a medição de volumes, a extração e análise radiómica, foi efectuada com recurso ao software *3DSlicer* (Fedorov et al., 2012), uma plataforma de código aberto usada para processamento e análise de imagens médicas.

As operações de segmentação das várias estruturas anatómicas de interesse, realizaram-se com a utilização do módulo *Segment Editor*. A segmentação dos gliomas e glioblastomas, foi efectuada em cada corte das imagens de RM, recorrendo a uma abordagem semiautomática de segmentação (Fedorov et al., 2012), baseada nas ferramentas *Thresholding* e *Grow from Seeds*, que permitiu uma maior precisão na obtenção das ROI's. As características imagiológicas das áreas com hiperintensidade (tecido tumoral e edema) das imagens ponderadas em T2-FLAIR, facilitou a distinção entre as áreas com diferentes características

tecidulares. A precisão das várias segmentações efetuadas, foi avaliada pela análise visual das ROI's nos três planos de visualização, axial, sagital e dorsal para os dados caninos e em axial, sagital e coronal para as imagens T2-FLAIR da amostra humana. Sempre que necessário foram realizadas pequenas correções manuais para otimizar o delineamento das ROIs, para garantir a consistência das segmentações obtidas.

O cálculo automático do volume de interesse (VOI) de cada lesão tumoral, foi realizado através do módulo *Segment Statistics*. Os volumes obtidos em mililitros (ml), tem por base o número e dimensão de cada voxel presente em cada ROI. Esta metodologia também foi utilizada para realizar a volumetria cerebral canina, uma vez que o algoritmo *skull stripping* (remoção de crânio) da extensão HB-BET baseado em redes neurais artificiais, não se encontra disponível para cães (Isensee et al., 2019), tendo sido usada para os dados humanos.

2.5 EXTRAÇÃO E ANÁLISE DAS CARACTERÍSTICAS RADIÓMICAS

O volume das lesões obtidos por segmentação foi utilizado para criar um modelo 3D, de forma a permitir a extração das características radiômicas contidas nas VOIs, tendo-se usado a extensão *SlicerRadiomics* da biblioteca *Pyradiomics* (Van Griethuysen et al., 2017). A *Pyradiomics* é um pacote *Python* de código aberto usado para calcular um total de 69 características radiômicas, estruturadas nas seguintes classes: estatísticas de primeira ordem (19 características), baseadas na forma (26 características), e matriz de coocorrência de níveis de cinza (GLCM) (24 características) (Lin et al., 2023). Além das lesões tumorais, também foram extraídas características radiômicas das VOIs de tecido cerebral “normal”, i.e, sem lesão aparente, geralmente no hemisfério contralateral.

Os métodos usados neste estudo seguiram a abordagem radiômica proposta por Faustino et al. (2024). A análise radiômica das VOI's obtidas a partir das imagens médicas baseou-se principalmente na extração de características de primeira ordem e de características derivadas da GLCM (Mayerhoefer et al., 2020). Para as características de primeira ordem, foram calculadas estatísticas fundamentais, como por exemplo: a média, mediana, desvio padrão, mínimo e máximo. Estes parâmetros fornecem uma compreensão mais ampla da distribuição geral das intensidades de cada voxel nas imagens médicas estudadas. Na mesma extração, as características baseadas no GLCM foram usadas para obter padrões espaciais específicos, e explorar as relações entre os níveis de intensidade dos pares de voxels.

Posteriormente, a análise comparativa focou-se na classificação entre “tecidos tumoral” e “tecido sem lesão”, bem como na avaliação de diferenças entre espécies (cães e humanos). Para esta finalidade, as curvas ROC foram usadas para definir a sensibilidade, especificidade e área sob a curva (AUC) para cada uma das características radiômicas, para que se pudesse determinar o poder de classificação de cada métrica, ou seja a sua precisão diagnóstica. Os critérios de comparação incluíram valores de $p < 0,05$ para testar a significância estatística e o índice de Youden para avaliar o equilíbrio entre os valores de sensibilidade e especificidade de cada característica radiômica

2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística para caracterização e comparação dos dados demográficos (caninos e humanos), e características radiômicas foram realizadas com o software IBM® SPSS® *Statistics* (Versão 29.0). O teste não-paramétrico de *Mann-Whitney* foi utilizado para a comparação de dados quantitativos.

A análise de medidas repetidas da ANOVA foi realizada para identificar diferenças significativas entre os grupos de tecido “lesão tumoral” e “tecido sem lesão” dentro dos sujeitos. Foram considerados resultados estatisticamente significativos para valores de $p < 0,05$.

Os dados foram submetidos a uma análise de componentes principais (ACP) para redução da dimensão e seleção das variáveis mais relevantes. Este método analítico transforma as variáveis originais num novo conjunto de variáveis denominadas de componentes principais, e contribui para uma representação mais compacta e interpretável dos dados. Cada componente principal é uma combinação linear ponderada das características originais, representando padrões latentes nas características radiômicas que melhor explicam a variação nos dados.

Posteriormente foram calculadas curvas ROC para avaliar o desempenho das características radiômicas na discriminação entre os diferentes tipos de tecidos, considerando sensibilidade, especificidade e o índice de Youden.

2.7 DESENVOLVIMENTO DE UM MODELO DE INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL

Para a classificação das ROIs como tecido tumoral e sem lesões, foi desenvolvido um modelo de inteligência artificial (IA) em Machine Learning (ML) baseado num classificador de suporte vetorial (do inglês *Support Vector Machine*, SVM), usando o software MATLAB

(R2022a). (The MathWorks, Inc., Natick, Massachusetts, United States, 2022 (https://www.mathworks.com/products/new_products/release2022a.html)).

O conjunto de dados foi dividido em dois subconjuntos: 70% dos dados foram utilizados para treino e validação do modelo, enquanto que os restantes 30% foram usados para teste. Posteriormente o modelo foi avaliado através de uma matriz de confusão, que permitiu calcular a exactidão e identificar os verdadeiros positivos (VP), verdadeiros negativos (VN), falsos positivos (FP) e falsos negativos (FN). No final, o modelo treinado foi aplicado a todo o conjunto de dados para avaliar o seu desempenho geral.

III. RESULTADOS

3.1 RESULTADOS DA ANÁLISE VOLUMÉTRICA

Os resultados da análise volumétrica estão apresentados na tabela 6. Esta análise permitiu determinar o volume tumoral e cerebral (cm³). De forma a realizar a comparação entre espécies e entre doentes de uma mesma amostra com diferentes volumes cerebrais, foi realizado uma normalização dos seus valores para obter a diferença de volume em ambas as espécies, através da seguinte formula:

$$\text{Diferença de volume} = \frac{\text{Volume cerebral} - \text{Volume tumoral total}}{\text{Volume cerebral}}$$

Esta normalização torna possível a comparação entre espécies com variações do volume cerebral, eliminando o impacto que teria o tamanho absoluto do cérebro. A diferença de volume calcula a fracção do volume cerebral que não se encontra ocupada pela lesão tumoral. Um valor que tende para 1, indica que o volume tumoral ocupa um espaço cerebral menor, sendo que o inverso indica uma maior ocupação relativa. Para uma comparação mais directa foi calculado o respetivo rácio, em percentagem do volume cerebral ocupada pelo tumor como métrica complementar, após segmentação das lesões tumorais (tabela 6 e figura 16).

Tabela 6. Resultados da volumetria para a amostra canina e humana

Cães	n	Mínimo	Máximo	Média	Desvio padrão
Volume tumoral (cm ³)	23	2,34	18,93	9,83	4,61
Volume cerebral cm3	23	39,10	112,52	93,91	16,64
Diferença de volume	23	0,81	0,97	0,89	0,05
Rácio (%)	23	2,85	18,62	10,54	4,52
Humanos					
Volume tumoral cm3	16	8,86	195,05	81,19	49,78
Volume cerebral cm3	16	1307,29	1763,36	1527,24	125,92
Diferença de volume	16	0,86	0,99	0,95	0,03
Rácio (%)	16	0,61	13,89	5,29	3,35

O teste estatístico de *Mann-Whitney* demonstrou a existência de diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,001$) entre os dados volumétricos de cães e humanos para todas as variáveis.

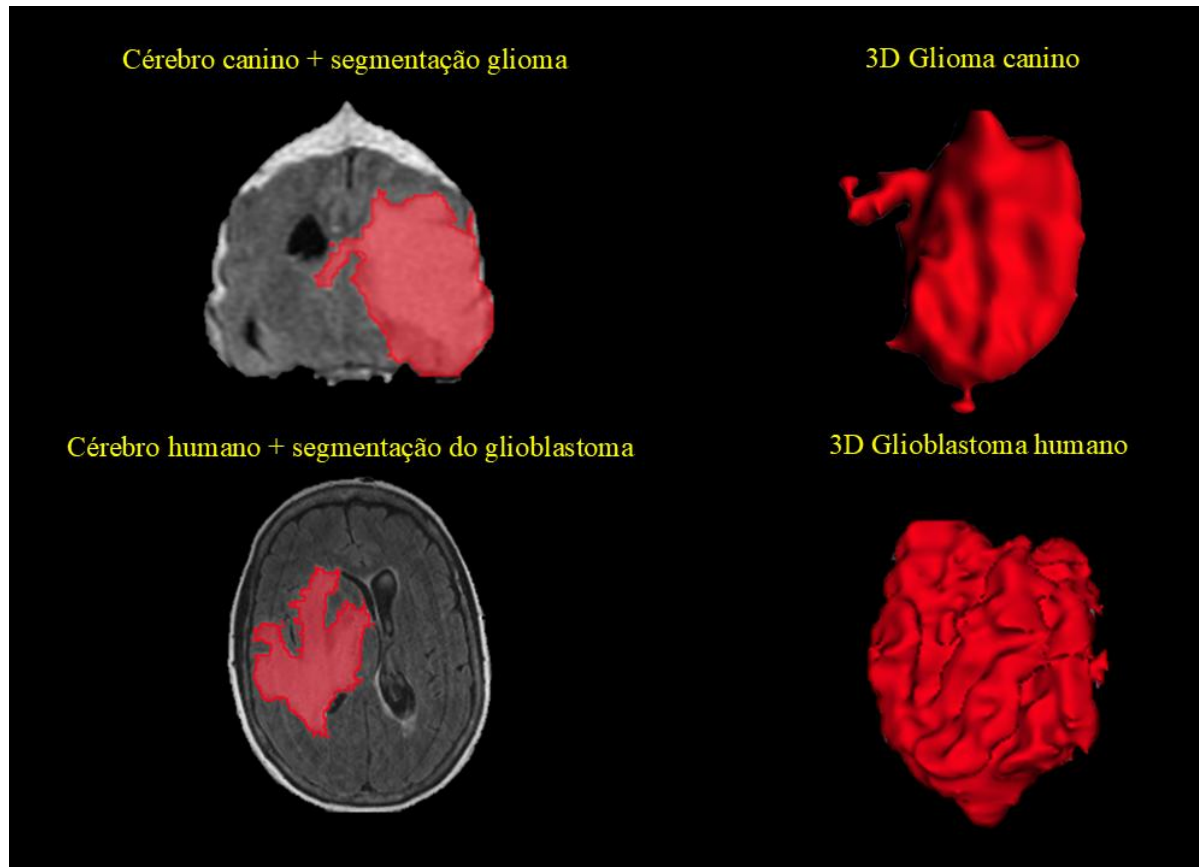


Figura 16. Segmentação e reconstrução 3D das lesões.

A segmentação das lesões tumorais nas imagens ponderadas em T2-FLAIR (em corte axial nesta figura) são um passo fundamental para a realização da volumetria bem como para a posterior extração das características radiômicas.

3.2 RESULTADOS DA ANÁLISE RADIÔMICA

Os testes de normalidade, nomeadamente o teste de *Kolmogorov-Smirnov*, demonstrou que a maioria das características radiômicas extraídas, não segue uma distribuição normal (a exceção da característica *SumEntropy* com um valor de $p > 0,005$), o que justifica o uso de testes não paramétricos, tal como o teste de *Mann-Whitney* para a comparação das distribuições.

Das 69 características radiômicas extraídas, apenas 10 foram selecionadas no final após a realização da análise ACP e ROC.

A análise ACP realizada permitiu identificar quais dos elementos foram mais eficientes na identificação de padrões que se podem relacionar com o tecido tumoral (figura 17). As três primeiras componentes principais apresentam valores de eigen (*eigenvalues*) de 21,98, 12,71 e 6,45, respetivamente. Estes valores permitem explicar 68,56% da variância acumulada.

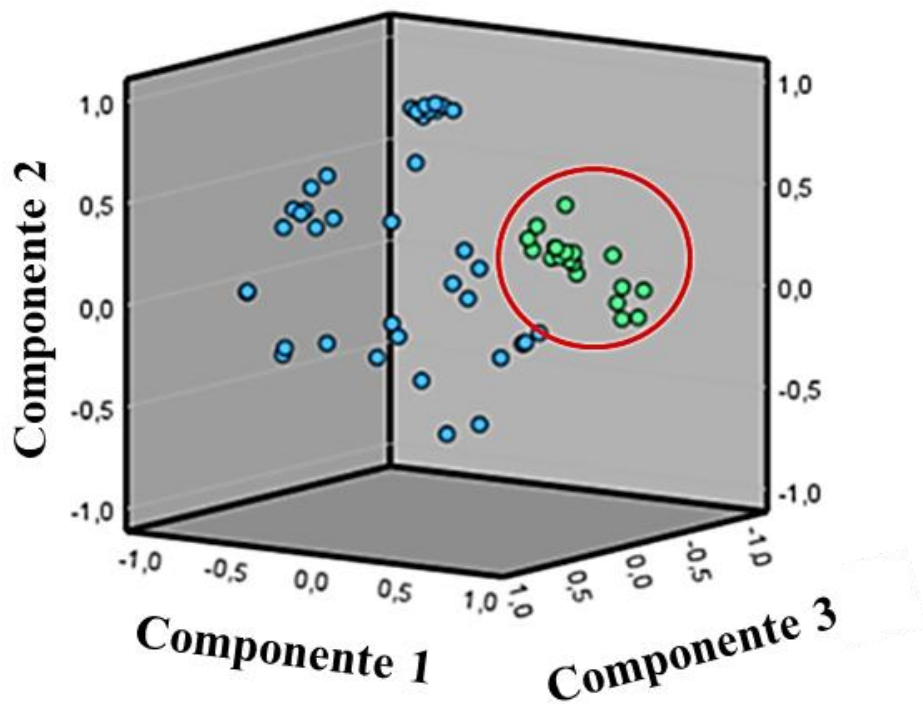


Figura 17. Análise ACP.

Plot 3D da ACP para as três componentes principais desta análise.

Os valores de comunalidade das variáveis, superiores a 0,9, indicam que uma grande parte da variância original foi retida nas componentes principais. Este resultado confirma a eficiência da ACP para o processo de redução da dimensão dos dados e na preservação das características fundamentais para este estudo. Os resultados da ACP mostram que os três primeiros componentes principais, são essenciais para explicar a variabilidade dos dados.

Os resultados da análise descritiva das características radiômicas para as variáveis correspondentes as ROI's dos tecidos cerebrais correspondentes a "Lesão tumoral" e "Sem lesão", são apresentados na tabela 7.

Tabela 7. Análise descritiva das características radiômicas.

	Tecido	n	Média	DP	Limite		Mínimo	Máximo
					Inferior	Superior		
<i>SumAverage</i>	Lesão	31	30,23	8,48	27,12	33,34	16,21	48,44
	Sem lesão	30	18,90	5,82	16,72	21,07	11,51	36,78
<i>SumEntropy</i>	Lesão	31	4,39	0,41	4,24	4,54	3,60	5,29
	Sem lesão	30	3,73	0,47	3,56	3,91	2,97	4,64
<i>SumSquares</i>	Lesão	31	10,62	6,11	8,38	12,86	2,87	31,54
	Sem lesão	30	4,79	3,07	3,64	5,94	1,49	13,80
<i>JointEntropy</i>	Lesão	31	6,72	0,84	6,42	7,03	4,88	8,71
	Sem lesão	30	5,70	0,93	5,35	6,05	4,32	7,67
<i>JointAverage</i>	Lesão	31	15,11	4,24	13,56	16,67	8,11	24,22
	Sem lesão	30	9,45	2,91	8,36	10,54	5,76	18,39
<i>Autocorrelation</i>	Lesão	31	251,67	134,52	202,33	301,01	68,15	601,98
	Sem lesão	30	99,50	65,68	74,97	124,02	36,15	339,96

Para verificar se as características radiômicas selecionadas, *JointEntropy*, *SumEntropy*, *SumAverage*, *JointAverage*, *SumSquares* e *Autocorrelation*, possuem diferenças de textura entre o tecido tumoral e sem lesão, realizou-se um teste de *Mann-Whitney*, tendo-se obtido um valor de $p < 0,001$ para as várias características radiômicas, demonstrando a existência de diferenças estatisticamente significativas. Estes resultados foram também corroborados com a realização de uma análise ANOVA, demonstrando a diferença existente entre o tecido tumoral e sem lesão. Estes resultados põem em evidência a importância das características radiômicas selecionadas e o seu potencial para discriminar os tecidos neoplásicos e sem lesão, com um valor de $p < 0,001$ e com valores robustos η^2 (quadrado) (intervalo entre 0,271 e 0,384) que reforça a importância clínica das variações observadas (ver tabela 8).

Tabela 8. Análise das características radiômicas com medidas repetidas ANOVA.

	Z (entre Grupos)	η^2	Tecidos	p
<i>SumAverage</i>	36,752	0,384	Tumoral vs Sem lesão	<0,001
<i>SumEntropy</i>	33,900	0,365	Tumoral vs Sem lesão	<0,001
<i>SumSquares</i>	21,953	0,271	Tumoral vs Sem lesão	<0,001
<i>JointEntropy</i>	20,353	0,256	Tumoral vs Sem lesão	<0,001
<i>JointAverage</i>	36,752	0,384	Tumoral vs Sem lesão	<0,001
<i>Autocorrelation</i>	31,183	0,346	Tumoral vs Sem lesão	<0,001

O teste de *Mann-Whitney* na análise por espécies, permitiu verificar que existem padrões de textura semelhantes, não existindo diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$), apesar de algumas características, como *JointEntropy* e *SumSquares*, apresentarem uma variação maior nos gliomas caninos em comparação com os glioblastomas humanos, com valores p de 0,395 e 0,171, respetivamente.

Para avaliar o poder estatístico para a classificação de uma determinada região de interesse em “lesão tumoral” ou “sem lesão”, realizou-se uma análise de curvas ROC. Os dados obtidos mostram que as áreas sob a curva (AUC) das características radiômicas variaram entre 80% e 87%, sendo que a *Autocorrelation* apresentou uma das maiores AUC (87%), com sensibilidade de 65% e especificidade de 97%. Este resultado sugere que esta característica radiômica possa ser um potencial biomarcador imagiológico para diferenciar os tecidos tumorais dos tecidos sem lesão. As características *JointAverage* e *SumAverage* também apresentaram AUC de 87%, no entanto com menores valores de especificidade, 73% e 90%, respetivamente (ver tabela 9 e figura 18).

Tabela 9. Resultados das curvas ROC.

	AUC	Sensibilidade	Especificidade	Índice de Youden	p
<i>JointAverage</i>	0,870	0,770	0,730	0,507	< 0,001
<i>JointEntropy</i>	0,800	0,770	0,670	0,441	< 0,001
<i>SumAverage</i>	0,870	0,710	0,900	0,610	< 0,001
<i>SumEntropy</i>	0,850	0,810	0,730	0,539	< 0,001
<i>SumSquares</i>	0,840	0,870	0,670	0,538	< 0,001
<i>Autocorrelation</i>	0,870	0,650	0,970	0,612	< 0,001

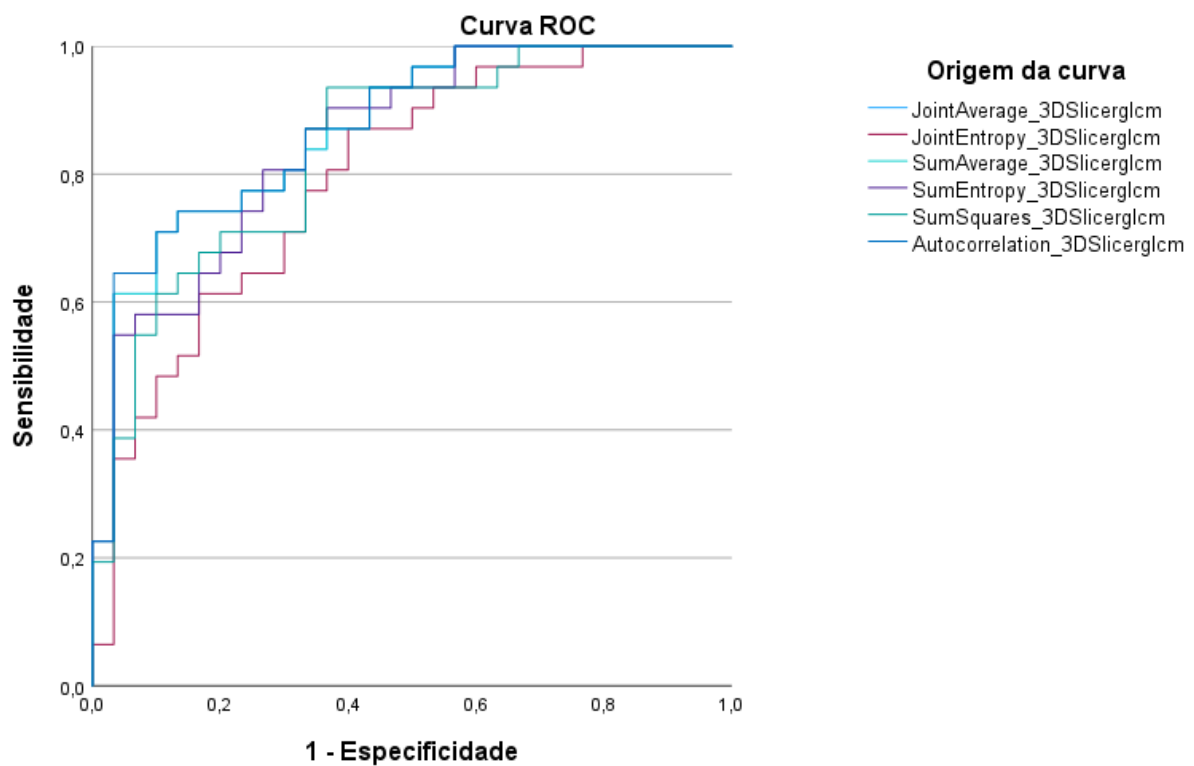


Figura 18. Análise curvas ROC.

Curvas ROC após a seleção das características radiômicas, com as três principais características com valores de AUC > 80%, *jointaverage*, *sumaverage* e *autocorrelation*, respetivamente ($p < 0,001$).

Considerando os resultados promissores acima descritos, desenvolveu-se um modelo IA baseado num classificador SVM, cuja avaliação para o grupo de teste resultou numa matriz de confusão com os seguintes resultados, 6 verdadeiros positivos (VP), 8 verdadeiros negativos (VN), 1 falso positivo (FP) e 3 falsos negativos (FN). O modelo para o grupo de teste obteve uma exatidão de classificação de 77,88%, evidenciando um desempenho promissor na classificação das ROIs entre tecido tumoral e sem lesão (figura 19).

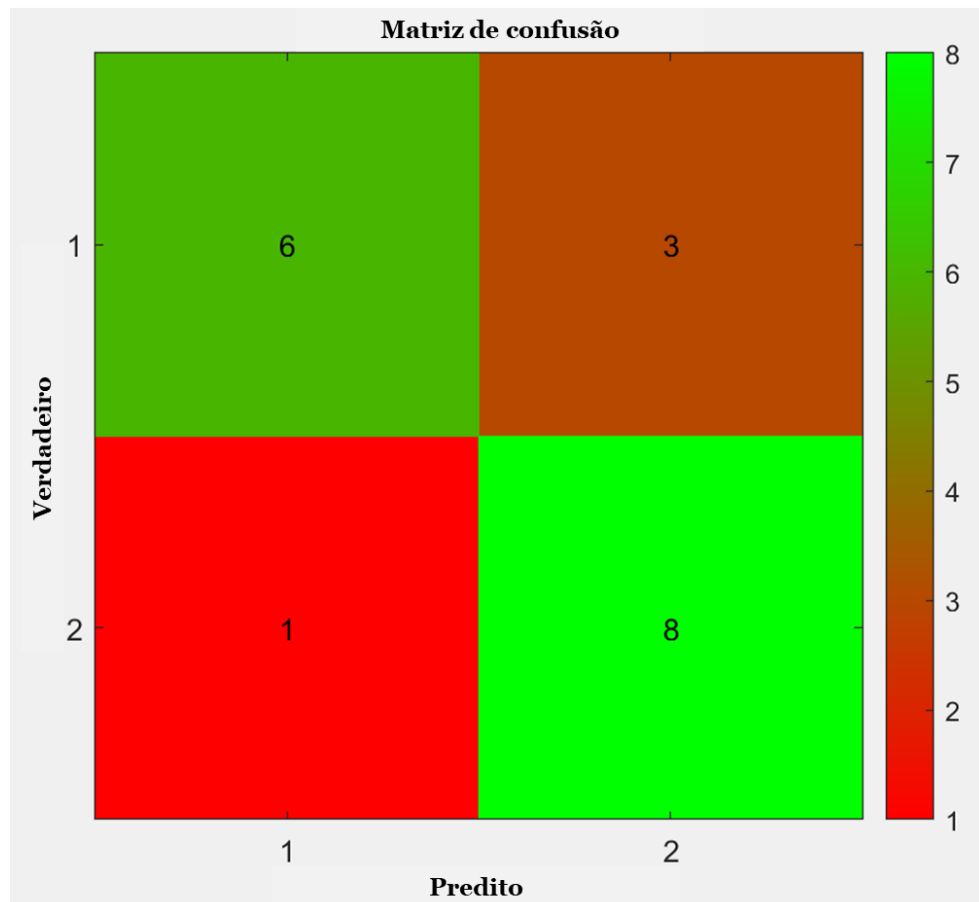


Figura 19. Matriz de confusão do grupo de teste.

Os resultados foram, 6 verdadeiros positivos (VP), 8 verdadeiros negativos (VN), 1 falso positivo (FP) e 3 falsos negativos (FN), o modelo para este conjunto de dados obteve uma exatidão de classificação de 77,88%.

Após a fase de treino o modelo foi testado para um grupo com a totalidade dos dados, tendo-se obtido os seguintes resultados para a matriz de confusão, 21 verdadeiros positivos (VP), 28 verdadeiros negativos (VN), 2 falso positivo (FP) e 10 falsos negativos (FN). O modelo para o grupo de total obteve uma exatidão de classificação de 80,33%, confirmando que o modelo é robusto quando se realiza a sua generalização para o conjunto total dos dados (Figura 20).

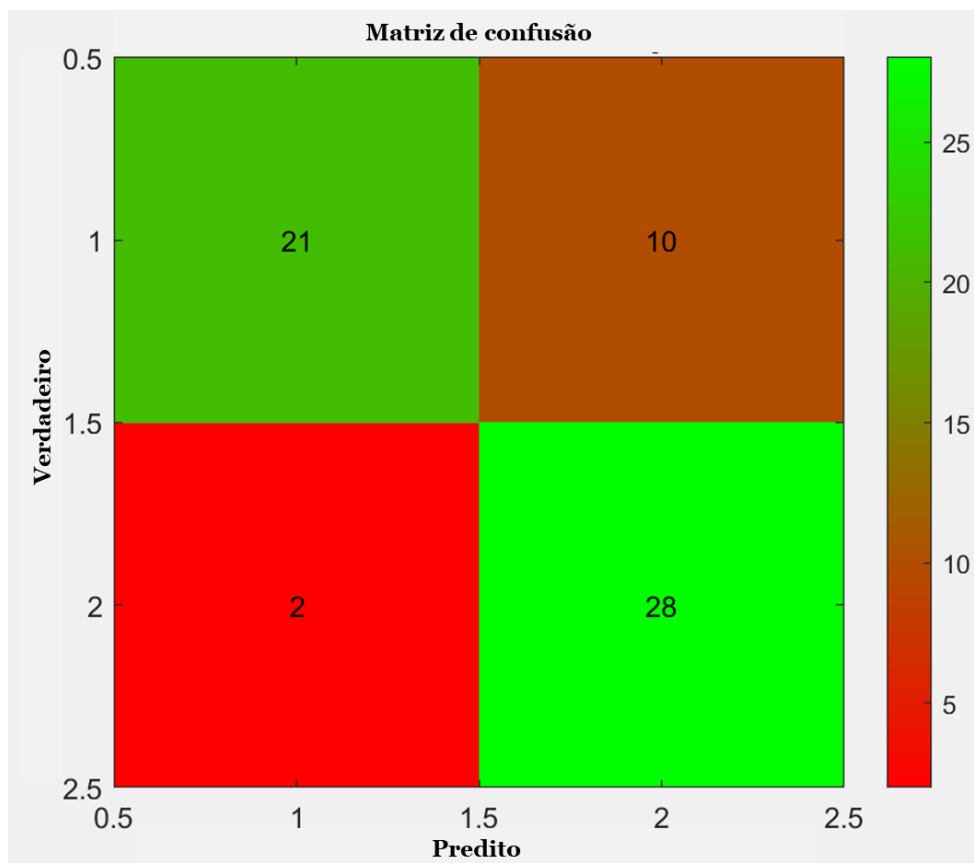


Figura 20. Matriz de confusão do grupo total de doentes.

Os resultados foram 21 verdadeiros positivos (VP), 28 verdadeiros negativos (VN), 2 falso positivos (FP) e 10 falsos negativos (FN). O modelo para este conjunto de dados obteve uma exatidão de classificação de 80,33%.

IV. DISCUSSÃO

4.1 INFLUENCIA DA DIFERENÇA DE VOLUME CEREBRAL ENTRE ESPÉCIES

O resultado da análise volumétrica em cães aferiu que as lesões tumorais ocupam em média 10,5% do volume cerebral, enquanto que nos humanos ocupam em média 5,29%. Embora se possa verificar que os valores de diferença cerebral (normalizados) entre cães e humanos seja menor, os rácios pelo contrário evidenciam a presença de um maior volume cerebral em humanos. Contudo verifica-se em ambos os casos uma diferença estatisticamente significativa pelo teste de *Mann-Whitney* ($p < 0,001$) para todas as variáveis volumétricas calculadas. Estes resultados apontam para a importância dos testes de normalização, para a realização de estudos de neuroimagiologia comparada, evidenciando a influência da diferença de volume cerebral entre espécies.

4.2 HETEROGENEIDADE TUMORAL E MALIGNIDADE

Os resultados obtidos neste estudo fornecem evidências que as características radiômicas extraídas tem potencial para realizar a discriminação entre tecidos tumorais e sem lesão, tanto em gliomas caninos como em glioblastomas humanos. As características radiômicas extraídas das imagens de RM T2-FLAIR, pelo método GLCM, mostraram ter potencial como biomarcadores imagiológicos para a avaliação da heterogeneidade tumoral, da sua uniformidade e complexidade tecidular. Nesta seção, são discutidos os principais achados, as suas implicações para a biologia tumoral e o papel dos gliomas caninos como modelos comparativos para glioblastoma humano.

A presença de uma elevada heterogeneidade intratumoral tem sido associada a uma biologia tumoral mais agressiva e a um prognóstico desfavorável em glioblastomas humanos (Gillies et al., 2016). Neste estudo, as características radiômicas *JointEntropy* e *SumEntropy*, que refletem a complexidade e desordem nas intensidades combinadas dos voxels, apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre as ROIs dos tecidos tumorais e das ROIs do tecido sem lesão ($p < 0.001$). Os resultados obtidos indicam uma maior variabilidade celular e estrutural nos tumores analisados, comparativamente com as regiões cerebrais sem lesão, indo de encontro à literatura existente (Fathi Kazerooni et al., 2021).

Os valores das características radiômicas dos gliomas caninos quando comparados com os glioblastomas humanos não apresentaram valores estatisticamente significativos, não

existindo uma grande variação nas suas características, o que pode refletir uma menor diversidade de subtipos celulares e uma resposta adaptativa menos diferenciada ao microambiente tumoral. A ausência de variação entre espécies é relevante, uma vez que indica que existem importantes semelhanças radiômicas entre os gliomas caninos e os glioblastomas humanos, a existência de semelhanças radiômicas (e biológicas) devem ser consideradas neste caso para uma validação do glioma canino como um modelo natural da doença e translacional para o estudo do glioblastoma humano.

4.3 UNIFORMIDADE E DENSIDADE CELULAR

As características radiômicas *JointAverage*, *SumAverage* e *Autocorrelation*, também associadas à uniformidade e à consistência da textura tumoral, demonstraram possuir capacidade para a discriminação entre os tipos de tecidos. Através da análise ROC realizada, verificou-se que estas características obtiveram uma AUC de 87%, com valores de sensibilidade variando de 65% a 77% e especificidade entre 73% e 97%, sugerindo que a uniformidade tecidual pode ser um importante marcador para diferenciar tecidos neoplásicos de não neoplásicos.

É de realçar a característica radiômica *Autocorrelation*, que obteve a maior AUC com 87% e que apresentou uma elevada especificidade de 97%, indicando que é especialmente eficaz na identificação de tecido tumoral com textura regular e homogênea. Este resultado mostra que os tumores com menos heterogeneidade estrutural apresentam uma distribuição celular mais uniforme, potencialmente correlacionada com uma biologia tumoral menos agressiva (Rajan et al., 2021).

A uniformidade evidenciada pelas características radiômicas *JointAverage* e *SumAverage* podem-se relacionar com um fenótipo tumoral mais organizado, com uma expressão mais consistente de receptores e proteínas estruturais, o que já se encontra descrito na literatura em estudos anteriores e associado a uma menor capacidade de invasão e proliferação tumoral (Li & Zhou, 2022).

4.4 DIFERENÇAS ENTRE ESPÉCIES E RELEVÂNCIA DOS GLIOMA CANINO COMO MODELO TRANSLACIONAL

Um dos objetivos principais deste estudo é entender se os gliomas caninos são um bom modelo natural da doença para o estudo dos glioblastomas humano. Os resultados obtidos indicam que, não existem diferenças substanciais entre as características radiômicas das duas espécies, os seus padrões de heterogeneidade e de uniformidade são bastante semelhantes. Estes resultados vão de encontro com a nossa proposta inicial de que os gliomas caninos pode ser modelos naturais da doença e translacionais válidos para o estudo de glioblastomas humanos, usando as imagens de RM e respetiva extração de características radiômicas, fornecendo novos dados sobre a biologia tumoral e sua interpretação biológica (tabela 11).

O facto de os gliomas caninos exibirem variações nas métricas de heterogeneidade, como *SumEntropy* e *JointEntropy*, pode ser atribuído à variabilidade genética e biológica que é inerente entre as raças de cães e às diferenças nas respostas ao microambiente tumoral. As raças braquicefálicas, por exemplo, que são mais frequentemente afetadas por gliomas, podem apresentar características tumorais particulares que não são observadas de forma tão evidente nos glioblastomas humanos. Esta variabilidade genética deve por isso ser tido em conta no futuro quando se pensar usar modelos caninos e extrapolar resultados para a medicina humana.

Tabela 11. Interpretação biológica das características radiômicas (Faustino, 2024; Guan, 2023; Li, 2022; Rajan, 2021; Fathi, 2021)

	Interpretação radiômica	Interpretação biológica	Sinalização celular e molecular
SumAverage	Média das somas dos valores de voxels em pares	Consistência da textura e uniformidade do tecido tumoral. Distribuição das células tumorais e a densidade do tecido	Expressão uniforme de moléculas de sinalização; microambiente tumoral controlado
SumEntropy	Desordem das somas dos valores de voxels	Estrutura complexa e heterogênea do tumor	Variabilidade na ativação de vias de sinalização como Wnt/ β -catenina e Notch
SumSquares	Variação dos valores de voxels em relação à média	Heterogeneidade intra-tumoral significativa. Necrose, grau de agressividade tumoral	Diferenças na expressão de moléculas-chave; ativação de vias como HIF-1 α e VEGF
JointEntropy	Complexidade e desordem nas intensidades combinadas	Maior Heterogeneidade celular e variabilidade na composição do tecido. Biologia mais agressiva e menos organizada	Diversidade de subpopulações celulares; ativação heterogênea de certas vias como EGFR e de apoptose (p53/Bcl-2)
JointAverage	Média das intensidades combinadas dos voxels vizinhos	Uniformidade e textura média do tumor, grau de homogeneidade do tecido tumoral	Distribuição homogênea de receptores e proteínas estruturais; vias de sinalização bem organizadas como PI3K/Akt e MAPK
Autocorrelation	Similaridade entre valores de voxels em distâncias específicas	Textura regular e homogênea do tecido tumoral	Expressão uniforme de receptores e ligantes; sinalização molecular sincronizada como a TGF- β

4.5 IMPLICAÇÕES CLÍNICAS E FUTURAS APLICAÇÕES NA MEDICINA PERSONALIZADA

O desenvolvimento de biomarcadores imagiológicos que diferenciem de maneira precisa tecidos tumorais de não tumorais tem implicações diretas para a denominada medicina de precisão. A utilização de características radiômicas como *JointAverage*, *SumAverage* e *Autocorrelation* poderá auxiliar a realização de estudos futuros na estratificação de risco de doentes, na seleção de candidatos para intervenções cirúrgicas e na avaliação da resposta ao tratamento. Por exemplo, as características com alta especificidade, como a *Autocorrelation*, podem ser usadas para a monitorização da progressão tumoral e para detetar recidivas precoces com maior exatidão.

A radiômica oferece uma vantagem significativa por ser uma abordagem não invasiva. A capacidade de extrair informações quantitativas diretamente de imagens de RM, torna esta técnica uma ferramenta poderosa para avaliar a resposta tumoral em tempo real, sem a necessidade de biópsias. Esta abordagem é particularmente relevante para os glioblastomas, cuja localização cerebral pode limitar o acesso a amostras tecidulares para avaliação histológica.

4.6 IMPORTÂNCIA DO DESENVOLVIMENTO DE UM MODELO DE IA

Os resultados obtidos com o modelo SVM realçou a importância das características radiômicas selecionadas para diferenciar as ROIs entre tecido tumoral e sem lesão. Com uma exatidão de 77,78% no grupo de teste e de 80,33% no grupo com o total dos doentes, podemos considerar que o desempenho do modelo é consistente e demonstra uma boa capacidade na generalização dos dados. A elevada especificidade da característica *Autocorrelation* e a capacidade de discriminação das restantes características radiômicas com uma AUC de 87% confirmam que as características selecionadas são preditores confiáveis para a realização desta tarefa.

O modelo também pôs em evidência a importância das características radiômicas relacionadas com a uniformidade e heterogeneidade tumoral, tais como a *SumAverage*, *SumSquares*, e *Autocorrelation*, que já se mostraram fundamentais para a caracterização da textura tumoral nas análises estatísticas previamente realizadas. Estes resultados indicam que as características radiômicas não só permitem a diferenciação entre tecidos tumorais e sem

lesão, mas possuem potencial para serem usadas como ferramentas úteis como auxiliares de apoio ao diagnóstico médico-veterinário, nomeadamente na área da imagiologia oncológica.

A utilização do SVM reforça a viabilidade e o potencial de usar algoritmos de IA para integrar múltiplas características radiômicas para realizar análises preditivas. O desempenho obtido, embora promissor, indica também a necessidade de otimizar ainda mais a capacidade do modelo, com o aumento do tamanho da amostra e com a inclusão de características adicionais. Ainda assim, os resultados atuais demonstram que modelos baseados em SVM podem ser uma peça central para desenvolver novas ferramentas de apoio ao diagnóstico, contribuindo para a identificação precisa de tecidos tumorais de forma não invasiva, não só a nível cerebral como também para os restantes órgãos.

A integração de modelos de IA, abre novos horizontes para futuras aplicações clínicas e pré-clínicas, especialmente quando combinados com metodologias não invasivas, como a análise radiômica de imagens RM.

Interface	Autocorrelation	Sum Average	Sum Squares	Classificação
Esquerda	36	11	1	O tecido foi classificado como: Sem Lesão
Direita	250	30	10	O tecido foi classificado como: Lesão tumoral

Figura 21. Radiômica translacional veterinária.

Imagens de um primeiro protótipo da aplicação digital desenvolvida para auxiliar o estudo dos gliomas caninos e glioblastomas humanos. Nesta ferramenta são inseridos as três características radiômicas com melhor desempenho na classificação das ROIs correspondentes à lesão suspeita, permitindo uma análise imagiológica não-invasiva, à semelhança de uma “biópsia virtual”.

Com base nos resultados obtidos, foi desenvolvida um primeiro esforço para desenvolver uma aplicação digital para a classificação dos tecidos em “lesão tumoral” e “sem lesão”, baseada nas características radiômicas selecionadas como biomarcadores imagiológicos. Esta ferramenta demonstra o potencial dos resultados num contexto translacional e pré-clínico, oferecendo um suporte para estudos futuros e para o desenvolvimento de sistemas de diagnóstico não invasivo com aplicação em neuro-oncologia veterinária e humana (figura 21).

4.7 LIMITAÇÕES DO ESTUDO E TRABALHOS FUTUROS

Algumas limitações precisam de ser consideradas na realização deste estudo. O tamanho da amostra pode influenciar a generalização dos resultados. Para além disso, a variabilidade dos protocolos de aquisição de neuroimagem por RM pode introduzir vieses que afetam a reprodutibilidade dos resultados. Para a realização de estudos futuros deve-se aumentar o tamanho da amostra e normalizar os protocolos de aquisição de imagem ou usar exames disponíveis em base de dados com protocolos de aquisição estáveis para validar os biomarcadores identificados.

A realização de estudos com análises multiômicas, como por exemplo, a inclusão de dados genómicos e proteómicos, assim como histopatológicos, em conjunto com a radiômica, poderá proporcionar uma caracterização mais abrangente da biologia tumoral. Apesar dos resultados positivos do modelo de IA, com uma exatidão de aproximadamente 80%, sugere-se a necessidade de integrar diferentes níveis de dados para melhorar a precisão dos modelos preditivos.

V. CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou a utilidade da análise radiômica e da utilização de modelos de IA baseado em SVM, conseguindo uma discriminação entre tecidos tumorais e sem lesões em gliomas caninos e glioblastomas humanos de 80%, utilizando características extraídas de imagens de RM T2-FLAIR. As métricas *JointEntropy*, *SumEntropy*, *JointAverage*, *SumAverage*, *SumSquares* e *Autocorrelation* mostraram-se eficazes na identificação de padrões de textura associados à heterogeneidade e à uniformidade tumoral. A área sob a curva (AUC), especialmente para características como *Autocorrelation*, com um valor de 87% e especificidade de 97%, confirma a relevância destes biomarcadores imagiológicos para avaliação da complexidade e uniformidade tecidular. A comparação entre espécies revelou semelhanças significativas, sugerindo que os gliomas caninos podem servir como modelos naturais da doença e serem translacionais para o estudo dos glioblastomas humanos, apesar de diferenças pontuais das variações das características radiômicas.

Este estudo contribui para a medicina veterinária e humana, ao fortalecer a noção de que os gliomas caninos podem ser modelos da doença válidos e úteis para o estudo dos glioblastomas humanos, proporcionando uma plataforma baseada no conceito de *One Medicine/One Imaging* para estudar a biologia tumoral e desenvolver novas estratégias de diagnóstico e tratamento.

Na medicina veterinária, a caracterização radiômica pode auxiliar na estratificação de risco e no futuro na escolha de novas terapias personalizadas para cães com gliomas. Para a medicina humana, as características de textura identificadas podem ser utilizadas como biomarcadores não invasivos para monitorização da progressão tumoral e avaliar a resposta ao tratamento, complementando desta forma as técnicas tradicionais de imagem por RM e de biologia molecular.

Concluindo, a capacidade de extrair informações quantitativas diretamente de imagens de RM proporciona uma abordagem prática e não invasiva para o acompanhamento de doentes, tanto na prática clínica em medicina veterinária como na medicina humana. A aplicação prática destes resultados radiômicos e a utilização de modelos de IA poderá ajudar a otimizar estratégias de tratamento, reduzindo a necessidade de biópsias invasivas e permitindo uma

monitorização mais frequente e precisa da doença, tendo culminado neste caso com o desenvolvimento de um primeiro protótipo de aplicação pré-clínica.

VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Basran, P. S., & Porter, I. (2022). Radiomics in veterinary medicine: Overview, methods, and applications. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 63(Suppl 1), 828-839.
- Bentley, R. T., Ober, C. P., Anderson, K. L., Feeney, D. A., Naughton, J. F., Ohlfest, J. R., O'Sullivan, M. G., Miller, M. A., Constable, P. D., & Pluhar, G. E. (2013). Canine intracranial gliomas: Relationship between magnetic resonance imaging criteria and tumor type and grade. *Veterinary Journal*, 198(2), 369-377.
- Berns G. (2020). Decoding the Canine Mind. Cerebrum: the Dana forum on brain science, cer-04-20.
- Boch, M., Huber, L., & Lamm, C. (2024). Domestic dogs as a comparative model for social neuroscience: Advances and challenges. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 162, 105700. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2024.105700>
- Bouhali, O., Bensmail, H., Sheharyar, A., David, F., & Johnson, J. P. (2022). A review of radiomics and artificial intelligence and their application in veterinary diagnostic imaging. *Veterinary Sciences*, 9(11), 620.
- Bunford, N., Hernández-Pérez, R., Farkas, E. B., Cuaya, L. V., Szabó, D., Szabó, Á. G., Gácsi, M., Miklósi, Á., & Andics, A. (2020). Comparative Brain Imaging Reveals Analogous and Divergent Patterns of Species and Face Sensitivity in Humans and Dogs. *The Journal of Neuroscience*, 40(43), 8396–8408.
- Burti, S., Zotti, A., & Banzato, T. (2024). Role of AI in diagnostic imaging error reduction. *Frontiers in Veterinary Science*, 11, 1437284.
- Buxton R. B. (2013). The physics of functional magnetic resonance imaging (fMRI). *Reports on progress in physics*. Physical Society (Great Britain), 76(9), 096601.

- Camps, T., Amat, M., & Manteca, X. (2019). A Review of Medical Conditions and Behavioral Problems in Dogs and Cats. *Animals: an open access journal from MDPI*, 9(12), 1133.
- Carrete, L. R., Young, J. S., & Cha, S. (2022). Advanced imaging techniques for newly diagnosed and recurrent gliomas. *Frontiers in Neuroscience*, 16, 787755.
- Castresana, J. S., & Meléndez, B. (2023). Glioblastoma Biology, Genetics and Possible Therapies. *Cells*, 12, 2063.
- Chieffo, D. P. R., Lino, F., Ferrarese, D., Belella, D., Della Pepa, G. M., & Doglietto, F. (2023). Brain Tumor at Diagnosis: From Cognition and Behavior to Quality of Life. *Diagnostics* (Basel, Switzerland), 13(3), 541.
- Dagher, S. A., Liu, H. L., Ozkara, B. B., Calle, S., Kaya, D., Gule-Monroe, M. K., Chasen, N. N., Schellingerhout, D., Learned, K. O., Shah, K. B., Johnson, J. M., Sun, J., Schomer, D. F., Kumar, V. A., Wintermark, M., Majd, N. K., Nam, J. Y., & Chen, M. M. (2024). The Impact of MRI-Based Advanced Neuroimaging on Neurooncologists' Clinical Decision-Making in Patients With Posttreatment High-Grade Glioma: A Prospective Survey-Based Study. *AJR. American journal of roentgenology*, 223(4), e2431595.
- Davis, M. E. (2016). Glioblastoma: Overview of disease and treatment. *Clinical Journal of Oncology Nursing*, 20(5), S2–S8.
- Dickinson P. J. (2014). Advances in diagnostic and treatment modalities for intracranial tumors. *Journal of veterinary internal medicine*, 28(4), 1165–1185. <https://doi.org/10.1111/jvim.12370>
- Essig, M., Hawighorst, H., Schoenberg, S. O., Engenhart-Cabillic, R., Fuss, M., Debus, J., Zuna, I., Knopp, M. V., & van Kaick, G. (1998). Fast fluid-attenuated inversion-recovery (FLAIR) MRI in the assessment of intraaxial brain tumors. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI*, 8(4), 789–798.

- Fasano, M., Pirozzi, M., De Falco, V., Miceli, C. C., Farese, S., Zotta, A., Famiglietti, V., Vitale, P., Di Giovanni, I., Brancati, C., Carfora, V., Solari, D., Somma, T., Cavallo, L. M., Cappabianca, P., Conson, M., Pacelli, R., Ciardiello, F., & Addeo, R. (2024). Temozolomide based treatment in glioblastoma: 6 vs. 12 months. *Oncology letters*, 28(3), 418.
- Faustino, R. J. F. (2020). *Novos biomarcadores morfológicos do cerebelo por ressonância magnética: Validação na doença de Machado-Joseph* [Tese de doutoramento, Universidade de Coimbra]. Repositório Estudo Geral
- Faustino, R., Lopes, C., Jantarada, A., Mendonça, A., Raposo, R., Ferrão, C., Freitas, J., Mateus, C., Pinto, A., Almeida, E., Gomes, N., Marques, L., & Palavra, F. (2024). Neuroimaging characterization of multiple sclerosis lesions in pediatric patients: an exploratory radiomics approach. *Frontiers in neuroscience*, 18, 1294574.
- Fedorov A., Beichel R., Kalpathy-Cramer J., Finet J., Fillion-Robin J., Pujol S., et al. (2012). 3D Slicer as an image computing platform for the quantitative imaging network. *Magn. Reson. Imaging* 30 1323–1341. 10.1016/j.mri.2012.05.001
- Garrett, M. D., Yanagihara, T. K., Yeh, R., McKhann, G. M., Sisti, M. B., Bruce, J. N., & Wang, T. J. C. (2017). Monitoring radiation treatment effects in glioblastoma: FLAIR volume as significant predictor of survival. *Tomography*, 3(3), 131-138.
- Gieger T. L. (2025). Radiation Therapy for Brain Tumors in Dogs and Cats. The Veterinary clinics of North America. *Small animal practice*, 55(1), 67–80.
- Gillies, R. J., Kinahan, P. E., & Hricak, H. (2016). Radiomics: Images are more than pictures, they are data. *Radiology*, 278(2), 563-577.
- Grochans, S., Cybulska, A. M., Simińska, D., Korbecki, J., Kojder, K., Chlubek, D., & Baranowska-Bosiacka, I. (2022). Epidemiology of glioblastoma multiforme—Literature review. *Cancers*, 14, 2412.

- Gunasegaran, B., Ashley, C. L., Marsh-Wakefield, F., & et al. (2024). Viruses in glioblastoma: An update on evidence and clinical trials. *BJC Reports*, 2(33).
- Hajnal, J. V., Bryant, D. J., Kasuboski, L., et al. (1992). Use of Fluid Attenuated Inversion Recovery (FLAIR) pulse sequences in MRI of the brain. *Journal of Computer Assisted Tomography*, 16(6), 841–844.
- Hoff, B. A., Lemasson, B., Chenevert, T. L., Luker, G. D., Tsien, C. I., Amouzandeh, G., Johnson, T. D., & Ross, B. D. (2021). Parametric Response Mapping of FLAIR MRI Provides an Early Indication of Progression Risk in Glioblastoma. *Academic radiology*, 28(12), 1711–1720. <https://doi.org/10.1016/j.acra.2020.08.015>
- Jezierzański, M., Nafalska, N., Stopyra, M., Furgoń, T., Miciak, M., Kabut, J., & Gisterek-Grocholska, I. (2024). Temozolomide (TMZ) in the Treatment of Glioblastoma Multiforme- A Literature Review and Clinical Outcomes. *Current oncology* (Toronto, Ont.), 31(7), 3994–4002.
- José-López, R. (2023). Chemotherapy for the treatment of intracranial glioma in dogs. *Frontiers in Veterinary Science*, 10, 1273122.
- José-López, R., Gutierrez-Quintana, R., & de la Fuente, C. (2021). Clinical features, diagnosis, and survival analysis of dogs with glioma. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 35(4), 1902–1917.
- Kaas J. H. (2013). The evolution of brains from early mammals to humans. Wiley interdisciplinary reviews. *Cognitive science*, 4(1), 33–45.
- Kinslow, C. J., Rae, A. I., Taparra, K., Kumar, P., Siegelin, M. D., Grinband, J., Gill, B. J. A., McKhann, G. M., Sisti, M. B., Bruce, J. N., Canoll, P. D., Iwamoto, F. M., Horowitz, D. P., Kachnic, L. A., Neugut, A. I., Yu, J. B., Cheng, S. K., & Wang, T. J. C. (2023). MGMT Promoter Methylation Predicts Overall Survival after Chemotherapy for 1p/19q-Codeleted

- Gliomas. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*, 29(21), 4399–4407.
- Lambin, P., Rios-Velazquez, E., Leijenaar, R., Carvalho, S., & Gillies, R. J. (2015). Radiomics: Extracting more information from medical images using advanced feature analysis. *European Journal of Cancer*, 48(4), 441-446.
- Li, Y., & Zhou, M. (2022). Radiomics in brain tumor imaging. *Current Radiology Reports*, 10(2), 65-73.
- Lin, A., Chen, Y., Chen, Y., Ye, Z., Luo, W., Chen, Y., Zhang, Y., & Wang, W. (2024). MRI radiomics combined with machine learning for diagnosing mild cognitive impairment: a focus on the cerebellar gray and white matter. *Frontiers in aging neuroscience*, 16, 1460293.
- Loeber, S. (2025). MRI characteristics of primary brain tumors and advanced diagnostic imaging techniques. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 55(1), 23–39.
- Lucchini, S., Constantinou, M., & Marino, S. (2024). Unravelling the mosaic: Epigenetic diversity in glioblastoma. *Molecular oncology*, 18(12), 2871–2889.
- Luksik, A. S., Yazigi, E., Shah, P., & Jackson, C. M. (2023). CAR T Cell Therapy in Glioblastoma: Overcoming Challenges Related to Antigen Expression. *Cancers*, 15(5), 1414.
- Lyras, G. A. (2009). The evolution of the brain in Canidae (Mammalia: Carnivora). *Scripta Geologica*, 139(48), 1–93.
- Yost, N. M. & M. Angelastro, J. (2023). Canine Glioma as a Model for Human Glioblastoma. *IntechOpen*. doi: 10.5772/intechopen.106464
- Mayerhoefer, M. E., Materka, A., Langs, G., Häggström, I., Szczypiński, P., Gibbs, P., & Cook, G. (2020). Introduction to radiomics. *Journal of Nuclear Medicine*, 61(4), 488-495. <https://doi.org/10.2967/jnumed.118.222893>

- McCague, C., Ramlee, S., Reinius, M., Selby, I., Hulse, D., Piyatissa, P., Bura, V., Crispin-Ortuzar, M., Sala, E., & Woitek, R. (2023). Introduction to radiomics for a clinical audience. *Clinical radiology*, 78(2), 83–98.
- Mikic, N., Gentilal, N., Cao, F., Lok, E., Wong, E. T., Ballo, M., Glas, M., Miranda, P. C., Thielscher, A., & Korshoej, A. R. (2024). Tumor-treating fields dosimetry in glioblastoma: Insights into treatment planning, optimization, and dose-response relationships. *Neuro-oncology advances*, 6(1), vdae032.
- Miller, A. D., Miller, C. R., & Rossmeisl, J. H. (2019). Canine primary intracranial cancer: A clinicopathologic and comparative review of glioma, meningioma, and choroid plexus tumors. *Frontiers in Oncology*, 9, 1151.
- Minniti, G., Niyazi, M., Alongi, F., Navarria, P., & Belka, C. (2021). Current status and recent advances in reirradiation of glioblastoma. *Radiation Oncology*, 16, 36.
- Nakajima, E. C., Simpson, A., Bogaerts, J., de Vries, E. G. E., Do, R., Garalda, E., Goldmacher, G., Kinahan, P. E., Lambin, P., LeStage, B., Li, Q., Lin, F., Litière, S., Perez-Lopez, R., Petrick, N., Schwartz, L., Seymour, L., Shankar, L., & Laurie, S. A. (2024). Tumor Size Is Not Everything: Advancing Radiomics as a Precision Medicine Biomarker in Oncology Drug Development and Clinical Care. A Report of a Multidisciplinary Workshop Coordinated by the RECIST Working Group. *JCO precision oncology*, 8, e2300687.
- Onciul, R., Brehar, F.-M., Toader, C., Covache-Busuioc, R.-A., Glavan, L.-A., Bratu, B.-G., Costin, H. P., Dumitrascu, D.-I., Serban, M., & Ciurea, A. V. (2024). Deciphering glioblastoma: Fundamental and novel insights into the biology and therapeutic strategies of gliomas. *Current Issues in Molecular Biology*, 46, 2402–2443.
- Parmar, C., Rios Velazquez, E., Leijenaar, R., Jermoumi, M., & Carvalho, S. (2014). Robust radiomics feature quantification using semiautomatic volumetric segmentation. *PLoS ONE*, 9(7), e102107. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0102107>

- Pereira, A. I., Franco-Gonçalo, P., Leite, P., Ribeiro, A., Alves-Pimenta, M. S., Colaço, B., Loureiro, C., Gonçalves, L., Filipe, V., & Ginja, M. (2023). Artificial Intelligence in Veterinary Imaging: An Overview. *Veterinary sciences*, 10(5), 320.
- Pons-Sorolla, M., Dominguez, E., Czopowicz, M., Suñol, A., Maeso Ordás, C., Morales Moliner, C., & Montoliu, P. (2022). Clinical and magnetic resonance imaging (MRI) features, tumour localisation, and survival of dogs with presumptive brain gliomas. *Veterinary Sciences*, 9(6), 257.
- Pope, W. B. (2018). *Brain metastases: Neuroimaging*. Handbook of Clinical Neurology, 149, 89-112.
- Qi, Y. J., Su, G. H., You, C., Zhang, X., Xiao, Y., Jiang, Y. Z., & Shao, Z. M. (2024). Radiomics in breast cancer: Current advances and future directions. *Cell reports. Medicine*, 5(9), 101719.
- Rajan, S., Rai, R., & Mulgaonkar, S. (2021). Heterogeneity in brain tumors. *Neurosurgery Review*, 44(2), 613-622. <https://doi.org/10.1007/s10143-020-01298-5>
- Rodríguez-Camacho, A., Flores-Vázquez, J. G., Moscardini-Martelli, J., Torres-Ríos, J. A., Olmos-Guzmán, A., Ortiz-Arce, C. S., & Moreno-Jiménez, S. (2022). Glioblastoma treatment: State-of-the-art and future perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*, 23, 7207.
- Rogers, W., Thulasi Seetha, S., Refaee, T. A. G., Lieverse, R. I. Y., Granzier, R. W. Y., et al. (2020). Radiomics: From qualitative to quantitative imaging. *British Journal of Radiology*, 93(20190948).
- Sadeghi, N. (2017). Neuroimaging of adult gliomas: An update. *Journal of the Belgian Society of Radiology*, 101(S1), 8.
- Saranathan, M., Worters, P. W., Rettmann, D. W., Winegar, B., & Becker, J. (2017). Physics for clinicians: Fluid-attenuated inversion recovery (FLAIR) and double inversion recovery (DIR) Imaging. *Journal of magnetic resonance imaging: JMRI*, 46(6), 1590–1600.

- Scapicchio, C., Gabelloni, M., Barucci, A., Cioni, D., Saba, L., & Neri, E. (2021). A deep look into radiomics. *La Radiologia Medica*, 126(1296-1311).
- Schaff, L. R., & Mellinghoff, I. K. (2023). Glioblastoma and other primary brain malignancies in adults. *JAMA*, 329(7), 574–587.
- Scrivani, P. V. (2022). *Veterinary head and neck imaging* (1^a ed.). Wiley-Blackwell
- Ser, M. H., Webb, M. J., Sener, U., & Campian, J. L. (2024). Immune Checkpoint Inhibitors and Glioblastoma: A Review on Current State and Future Directions. *Journal of immunotherapy and precision oncology*, 7(2), 97–110.
- Shukla, G., Alexander, G. S., Bakas, S., Nikam, R., Talekar, K., Palmer, J. D., & Shi, W. (2017). Advanced magnetic resonance imaging in glioblastoma: A review. *Chinese Clinical Oncology*, 6(4), 40.
- Suñol, A., Mascort, J., Font, C., Bastante, A. R., Pumarola, M., & Feliu-Pascual, A. L. (2017). Long-term follow-up of surgical resection alone for primary intracranial rostrotentorial tumors in dogs: 29 cases (2002-2013). *Open veterinary journal*, 7(4), 375–383.
- Tresch, N. S., Fuchs, D., Morandi, L., Tonon, C., Rohrer Bley, C., & Nytko, K. J. (2021). Temozolomide is additive with cytotoxic effect of irradiation in canine glioma cell lines. *Veterinary medicine and science*, 7(6), 2124–2134. <https://doi.org/10.1002/vms3.620>
- Truve, K., Dickinson, P., Xiong, A., York, D., Jayashankar, K., Pielberg, G., et al. (2016). Utilizing the dog genome in the search for novel candidate genes involved in glioma development: Genome-wide association mapping followed by targeted massive parallel sequencing identifies a strongly associated locus. *PLoS Genetics*, 12(e1006000).
- Van den Bent, M. J., Geurts, M., French, P. J., Smits, M., Capper, D., Bromberg, J. E. C., & Chang, S. M. (2023). Primary brain tumours in adults. *Lancet*, 402(10412), 1564-1579.

- Van Griethuysen, J. J. M., Fedorov, A., Parmar, C., Hosny, A., Aucoin, N., Narayan, V., Beets-Tan, R. G. H., Fillon-Robin, J. C., Pieper, S., Aerts, H. J. W. L. (2017). Computational Radiomics System to Decode the Radiographic Phenotype. *Cancer Research*, 77(21), e104–e107.
- Villanueva-Meyer, J. E., Mabray, M. C., & Cha, S. (2017). Current clinical brain tumor imaging. *Neurosurgery*, 81(3), 397-415.
- Wang, L. M., Englander, Z. K., Miller, M. L., & Bruce, J. N. (2023). Malignant Glioma. *Adv Exp Med Biol*, 1405, 1-30.
- Wang, H., Guo, M., Wei, H., & et al. (2023). Targeting p53 pathways: Mechanisms, structures, and advances in therapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 8(92).
- Weller, M., Wen, P. Y., Chang, S. M., Dirven, L., Lim, M., Monje, M., & Reifenberger, G. (2024). Glioma. *Nature reviews. Disease primers*, 10(1), 33.
- Xu, S., Tang, L., Li, X., Fan, F., & Liu, Z. (2020). Immunotherapy for glioma: Current management and future application. *Cancer Lett*, 476, 1-12.
- Yasinjan, F., Xing, Y., Geng, H., Guo, R., Yang, L., Liu, Z., & Wang, H. (2023). Immunotherapy: a promising approach for glioma treatment. *Front Immunol*, 14, 1255611.
- Yoshida, K., Chambers, J. K., & Uchida, K. (2023). Immunohistochemical study of neural stem cell lineage markers in canine brains, gliomas, and a glioma cell line. *Veterinary pathology*, 60(1), 35–46.
- Yuan, B., Wang, G., Tang, X., Tong, A., & Zhou, L. (2022). Immunotherapy of glioblastoma: Recent advances and future prospects. *Human vaccines & immunotherapeutics*, 18(5), 2055417. <https://doi.org/10.1080/21645515.2022.2055417>

Zhong, W., Mao, J., Wu, D., Peng, J., & Ye, W. (2024). The efficacy of stereotactic radiotherapy followed by bevacizumab and temozolomide in the treatment of recurrent glioblastoma: a case report. *Frontiers in pharmacology*, 15, 1401000.

Ziu, M., Halasz, L. M., Kumthekar, P. U., McGranahan, T. M., Lo, S. S., & Olson, J. J. (2025). Congress of Neurological Surgeons systematic review and evidence-based guidelines for the role of chemotherapy in newly diagnosed WHO Grade II diffuse glioma in adults: update. *J Neurooncol*, 171(2), 279-298.