



MICROTOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA APLICADA À ENDODONTIA:
OTIMIZAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICOS E APLICAÇÕES PRÁTICAS

Bernardo Camargo dos Santos

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Nuclear, COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Engenharia Nuclear.

Orientadora: Inayá Corrêa Barbosa Lima

Rio de Janeiro
Março de 2019

MICROTOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA APLICADA À ENDODONTIA:
OTIMIZAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICOS E APLICAÇÕES PRÁTICAS

Bernardo Camargo dos Santos

TESE SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO INSTITUTO ALBERTO LUIZ COIMBRA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA DE ENGENHARIA (COPPE) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM CIÊNCIAS EM ENGENHARIA NUCLEAR.

Examinada por:



Prof. Inayá Correa Barbosa Lima, DSc.



Prof. Ademir Xavier da Silva, DSc.



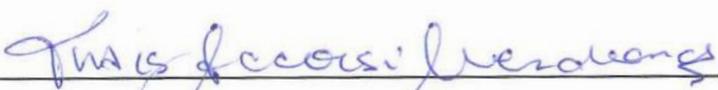
Prof. Eduardo Franzotti Sant'Anna, PhD.



Profa. Marília Fagury Videira Marceliano-Alves, PhD.



Prof. Paulo Fernando Ferreira Frutuoso e Melo, DSc.



Dr. Thaís Accorsi-Mendonça, PhD.

RIO DE JANEIRO, RJ – BRASIL

MARÇO DE 2019

Santos, Bernardo Camargo dos

Microtomografia computadorizada aplicada à endodontia: Otimização de parâmetros físicos e aplicações práticas/ Bernardo Camargo dos Santos. – Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2019.

XVI, 125 p.: il.; 29,7 cm.

Orientador: Inayá Correa Barbosa Lima

Tese (doutorado) – UFRJ/ COPPE/ Programa de Engenharia Nuclear, 2019.

Referências Bibliográficas: p. 102-111.

1. Micro-CT. 2. Endodontia. 3. Processamento de imagens. I. Lima, Inayá Correa Barbosa. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, Programa de Engenharia Nuclear. III. Título.

“Uma imagem vale mais que mil palavras”
“*A picture is worth a thousand words*”

AGRADECIMENTO

Todo e qualquer feito que eu tenha atingido deve-se a minha família, principalmente aos meus pais, Dirceu e Izabel, que são minha base e referência.

Desta vez porém, a maior responsável por conseguir finalizar esta etapa foi minha parceira, esposa e amor: Cassia. Obrigado por me manter sereno e focado no que realmente importa.

Aos meus irmãos Gustavo e Fernanda que me acompanharam desde sempre entre dor e amor (muito mais amor). A Bruna, Matheus, Fox e Neca.

Ao Luiz e Silvia, obrigado por todo carinho e suporte. Sou muito feliz por ter vocês como família.

À Profa. Dra. Inayá Correa Barbosa Lima pela oportunidade de fazer este doutorado e ter me encaminhado a inscrição para meu tão sonhado doutorado-sanduíche na KU Leuven.

Ao Prof. Paul Lambrechts, meu orientador por um ano na KU Leuven, onde cresci muito profissionalmente e pessoalmente. Sua sabedoria o fez uma referência em minha vida.

À Prof. Aline Neves, hoje minha amiga e que mudou minha vida ao me apresentar a KU Leuven.

Ao Prof. Paulo Fernando, coordenador do Programa de Engenharia Nuclear PEN/COPPE/UFRJ, por sempre manter as portas abertas a mim, me aconselhando com sua experiência e sensatez.

Ao prof. Carlos Castro pela fundamental participação ao me ensinar e me preparar para a prova de ingresso ao doutorado. Ensinar fundamentos de física quântica e métodos matemáticos a um dentista, em 3 meses, deve ter exigido uma paciência sobre-humana que somente grandes professores têm.

Ao Prof. Ricardo Tadeu por me acolher no Laboratório de Instrumentação Nuclear e por acreditar em mim.

Estendo o agradecimento aos funcionários do PEN, principalmente a Josevalda "Jô" e Liliane "Lili", por todo o carinho, paciência e atenção comigo.

Aos meus amigos de LIN: Alessandra de Castro (fundamental desde o início), Milena, Átila, Célio, Alessandra, Thaís, Zé, Bira, Carlos e Aquiles; passei dias muito legais na companhia de vocês.

Ao CNPq e à Capes pelo apoio financeiro.

Resumo da Tese apresentada à COPPE/UFRJ como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Doutor em Ciências (D.Sc)

MICROTOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA APLICADA À ENDODONTIA:
OTIMIZAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICOS E APLICAÇÕES PRÁTICAS

Bernardo Camargo dos Santos

Março / 2019

Orientador: Inayá Correa Barbosa Lima

Programa: Engenharia Nuclear

O objetivo deste trabalho foi otimizar a aplicação da microCT em dentes buscando-se uma imagem de qualidade desde a aquisição até a segmentação, explorando os aspectos de resolução espacial, contraste e ruído. Para isto, compararam qualitativa e quantitativamente as imagens resultantes de três diferentes aparelhos de microtomografia, em diferentes potências e arranjos energéticos de aquisição, após o uso de diferentes algoritmos de processamento de imagem, como filtragem e segmentação. Demonstrou-se, então, que a simples utilização dos mesmos parâmetros de aquisição não é suficiente para a correta interpretação, comparação e replicação dos resultados obtidos entre diferentes aparelhos, havendo a necessidade de padronização. Houve relação positiva entre a diminuição da tensão do feixe utilizada e a qualidade e quantidade de estruturas visualizadas, quando acima de um valor mínimo de ruído. Em processamento de imagens, a utilização do filtro *Unsharp mask* melhorou significativamente o volume e a qualidade de segmentação dos canais radiculares, além de diminuir sua variância em relação à imagem bruta. Um método semiautomático de binarização gerou as melhores imagens, entretanto o método automático desenvolvido por *Otsu*, em espaço tridimensional, apresentou resultados mais consistentes.

Abstract of Thesis presented to COPPE/UFRJ as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Science (D.Sc.)

MICRO-COMPUTED TOMOGRAPHY IN ENDODONTICS: OPTIMIZATION OF
PHYSICAL PARAMETERS AND APPLICATIONS

Bernardo Camargo dos Santos

March / 2019

Advisor: Inayá Correa Barbosa Lima

Department: Nuclear Engineering

This thesis aims to optimize the application of microCT in teeth seeking the best image quality from the acquisition to thresholding, arguing over the spatial resolution, contrast and noise. For this, the resulting images of three different micro-tomography devices were compared qualitatively and quantitatively, with different acquisition energy powers and arrangements, after the use of different image processing algorithms, as filters and thresholding methods. It was demonstrated that the simple use of the same acquisition parameters is not sufficient for the correct interpretation, comparison, and replication of the results obtained between different devices, requiring an standard approach. A positive relationship between the decrease of the beam voltage and the quality and amount of visualized structures was shown. The use of the Unsharp mask filter significantly improved the segmentation quality of the root canals, in addition to reducing their variance in relation to the raw image. The best images were provided by a semi-automatic thresholding method. However, more consistent results were shown using the automatic method developed by Otsu in three-dimensional space.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Apresentação do Problema	4
1.2 Objetivos	5
1.3 Organização do trabalho.....	5
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	7
2.1 Funcionamento de Tomografia	8
2.2 Fonte de Raios X.....	11
2.3 Detector	12
2.4 Parâmetros físicos e qualidade da imagem	13
2.4.1. Resolução espacial	14
2.4.2. Resolução em Contraste.....	22
2.4.3. Ruído.....	25
2.5 A Visão Humana	27
2.6 Reconstrução	28
2.7 Softwares.....	31
2.8 Filtros	33
2.9 Segmentação	35
2.9.1 Método de Visual ou Global	37
2.9.2 Segmentação automática	38
2.9.3 Método Semiautomático por Limiar de Adaptação	38
3. MATERIAIS E MÉTODOS	40
3.1 Amostra	42
3.2 Equipamentos	42
3.2.1 Skyscan 1172.....	43
3.2.2 Skyscan 1173.....	44
3.3.3 Phoenix NanoTom – GE	45
3.4 Aquisição.....	46
3.5 Reconstrução	48

3.6 Parâmetros estudados	48
3.6.1 Análise Qualitativa	49
3.6.2 Análise Quantitativa	49
3.7 Teste Estatístico	52
4. RESULTADOS	53
4.1 Artigo 1: Resolução espacial: as informações descritas em trabalhos de microCT em Endodontia são suficientes para a correta interpretação, comparação e replicação de resultados adquiridos?	53
4.1.1 Materiais e métodos	55
4.1.2 Resultados	57
4.2 - Artigo 2: A importância dos parâmetros energéticos da aquisição tomográfica na resolução espacial e sua relação com ruído.	60
4.2.1 Materiais e Métodos	61
4.2.2 Resultados	63
4.3 Artigo 3: O uso de filtros no processamento da imagem tomográfica e sua influência na visualização e quantificação de estruturas do SCR.	71
4.3.1 Materiais e Métodos	72
4.3.2 Resultados	73
4.4 Artigo 4: Qual o algoritmo de segmentação ideal para trabalhos na Endodontia?	80
4.4.1 Materiais e Métodos	81
4.4.2 Resultados	83
5. DISCUSSÃO	89
6. CONCLUSÃO	100
BIBLIOGRAFIA	102
ANEXOS	112
Anexo 1: Análise estatística	112
Anexo 2 : Análise estatística SNR	113
Anexo 3 : Artigos publicados	117
Anexo 5 : Certificado KU Leuven relativo ao Doutorado-sanduíche:	122
Anexo 4 : Relatório Orientador no Exterior (Doutorado-sanduíche):	124

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Número de artigos publicados no PubMed, por ano, em pesquisa com as palavras “Micro-CT” + “Dentistry” (pesquisa realizada dia 04 de Janeiro de 2019) revelam grande aumento de publicações nos últimos anos.	2
Figura 2. Sistema de geometria variavel (esquerda) e sistema de geometria fixa (direita).	16
Figura 3. Ilustração do efeito do tamanho do foco na qualidade da imagem (OLIVEIRA, 2012).	17
Figura 4. Geometria do feixe cônico usada em MicroCT: a geometria ortogonal existe apenas no eixo óptico, mostrado em vermelho.	18
Figura 5. `A esquerda, tabela referente a matriz 1120x1120 relacionando o tamanho do pixel com a resolução espacial. `A direita, os resultados em forma de gráfico da RE em função do tamanho de pixel empregado na aquisição de imagem de microCT do sistema Skyscan 1173, que por sua vez se modifica devido à magnificação utilizada (TELES, 2016).	22
Figura 6. Ilustração da MTF da visão humana mostrando que a habilidade de resolver detalhes em baixo contraste ocorre numa frequência espacial média (RUSS & NEAL, 2017).	28
Figura 7. Diagrama da sequência dos passos de processamento de imagem (GONZALEZ e WOODS, 2000).	40
Figura 8. Diagrama mostrando uma visão geral dos estudos e suas inter-relações.	41
Figura 9. Mini-siso renderizado como modelo 3D (esquerda) e a relação entre anatomia interna (em vermelho) e externa, na figura da direita.	42
Figura 10. Sistema Skyscan/Bruker modelo 1172	44
Figura 11. Sistema de alta energia Skyscan/Bruker modelo 1173.	45
Figura 12. Sistema Phoenix NanoTom.	46
Figura 13. a).Modelo tridimensional gerado a partir de aquisição utilizando 4,5 µm de tamanho de pixel. b).Em amarelo algumas das estruturas que foram utilizadas como parametro de comparacao qualitativa.	50

Figura 14. Imagem do software Isee mostrando a projeção à direita e o quadro com o cálculo da SNR. Em azul, o valor do tamanho do pixel de aquisição e, logo abaixo, o valor da SNR.	51
Figura 15. Terço médio e apical de raiz mesio-vestibular escaneada na mesma posição por dois parâmetros diferentes a) Pixel: 14,8 µm; Flat Pannel sensor 1024x1024; Resolução: 21,4µm. b) Pixel: 5,9 µm; Flat Pannel sensor 2248x2248; Resolução: 14,9µm (SANTOS, 2012).	54
Figura 16. Cinco datasets diferentes foram obtidos em três aparelhos de microtomografia, mantendo-se os mesmos parâmetros e tamanho de pixel....	56
Figura 17. Fotografia 2D da renderização 3D dos 27 datasets finais, relativos ao aparelho 1172, 1173 e NanoTom, em 8 watts separados em colunas referentes aos filtros utilizados	58
Figura 18. Fotografia 2D da renderização 3D dos 18 datasets finais, relativos ao aparelho 1172 e NanoTom, em 10 watts separados em colunas referentes aos filtros utilizados	59
Figura 19. Prancha com imagens 2D do modelo 3D, na mesma posição espacial, para o grupo 1172 utilizando a potência energética de 8 watts	63
Figura 20. Prancha com imagens 2D do modelo 3D, na mesma posição espacial, para o grupo 1172 utilizando a potência energética de 10 watts	64
Figura 21. Prancha com imagens 2D do modelo 3D, na mesma posição espacial, para o grupo 1173_Unsharp e 1173_No_filter, utilizando a potência energética de 8 watts	64
Figura 22. Prancha com imagens 2D do modelo 3D, na mesma posição espacial, para o grupo 1173_ Kuwahara, utilizando a potência energética de 8 watts....	65
Figura 23. Prancha com imagens 2D do modelo 3D, na mesma posição espacial, para o grupo Nanotom_Unsharp, Nanotom_No_filter e Nanotom_Kuwahara, utilizando a potência energética de 15 watts	65
Figura 24. A mesma fatia, em três diferentes energias (40, 55 e 70kV) mostra a conexão e falta de conexão com o canal principal.....	66

Figura 25. A mesma fatia, em três diferentes energias (40, 55 e 70kV) mostra o aumento da falta de conexão com o canal principal (espessura da dentina) ...	66
Figura 26. A mesma fatia, em três diferentes energias (40, 55 e 70kV) mostra a não segmentação de um poro em energias maiores	67
Figura 27. Valores de volume do SCR referentes as diferentes relações kV/ μ A em cores distribuídos entre os tipos de filtros e algoritmos de segmentação utilizados.	69
Figura 28. Visão geral do M&M do artigo 2.	72
Figura 29. Prancha com imagens 2D do modelo 3D, na mesma posição espacial, para o grupo 1172_8W, em todos os filtros utilizados.	74
Figura 30. Valores de desvio padrão por equipamento (cores), separado por filtros	77
Figura 31. Representação gráfica da abordagem utilizada na seleção dos algoritmos de segmentação, e seus parâmetros, que proporcionam a segmentação do SCR. Em vermelho os parâmetros que não promoveram e em verde, os que promoveram a correta segmentação. Ao final, em azul, os algoritmos e parâmetros utilizados na segunda fase.	82
Figura 32. Prancha com imagens bidimensionais de modelos 3D gerados pelo grupo do algoritmo de segmentação "MM+100;70;3D"	84
Figura 33. Amostra escaneada com os mesmos parâmetros de aquisição (incluindo tamanho de pixel) em três diferentes tomógrafos mostrando diferentes estruturas anatômicas	90
Figura 34. Raiz de um pré-molar inferior escaneada em dois parâmetros diferentes mostrando o aumento das estruturas anatômicas visualizadas. `A esquerda, pixel size de 14,8 μ m; `a direita, pixel size de 3.74 μ m.....	93
Figura 35. espectro de raios X com uso de filtro de alumínio de 1mm (ARAUJOI, 2016).	96

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Resumo das especificações dos principais componentes por aparelho	43
Tabela 2. <i>Vinte e um parâmetros de aquisição diferentes (relação kV/μA) distribuídos em três diferentes potências de raios-X.</i>	47
Tabela 3. Parâmetros da aquisição por grupo de tomógrafo.....	47
Tabela 4. Os 27 datasets finais, relativos ao aparelho 1172, 1173 e NanoTom, em 8 watts separados em colunas referentes aos filtros utilizados.	57
Tabela 5. Os 18 datasets finais, relativos ao aparelho 1172 e NanoTom, em 10 watts separados em colunas referentes aos filtros utilizados.	57
Tabela 6. Valores relativos ao volume total do SCR dos grupos 8 Watts e 10 Watts nos diferentes filtros e algoritmos de segmentação:.....	58
Tabela 7. Configurações de parâmetros utilizados, onde se variou a relação kV/ μ A na aquisição.....	62
Tabela 8. Dezesete parâmetros de aquisição diferentes (relação kV/ μ A) distribuídos em três diferentes potências e tomógrafos de raios-X.	68
Tabela 9. Média do volume do SCR, acompanhado pelo desvio padrão, dos quatro diferentes grupos de datasets vindos de três diferentes microtomógrafos, submetidos a oito diferentes filtros e combinações de filtros. Para facilitar a visualização, os valores de desvio padrão foram divididos em faixas por cores: Abaixo de 0,00200 - azul; de 0,00201 a 0,00400 - verde; de 0,00401 a 0,00600 - branco; de 0,00601 a 0,00800 - amarelo; de 0,00801 a 0,01000 - laranja; acima de 0,01000 - vermelho	75
Tabela 10. <i>Dezesete parâmetros de aquisição diferentes (relação kV/μA) distribuídos em três diferentes potências de raios-X. Foi possível comparar os mesmos parâmetros em dois tomógrafos diferentes (Skyscan 1172 and Skyscan 1173) utilizando 8 watts. Para facilitar a visualização, os valores de desvio padrão foram divididos em faixas por cores: Abaixo de 0,00200 - azul; de 0,00201 a 0,00400 - verde; de 0,00401 a 0,00600 - branco; de 0,00601 a 0,00800 - amarelo; de 0,00801 a 0,01000 - laranja; acima de 0,01000 - vermelho.</i>	85

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 2. Média da SNR nas quatro diferentes potencias:	70
Gráfico 3. Análise estatística mostrando diferenças significativas ao se aumentar a tensão do feixe e, certa tendência a não haver mais diferença entre as maiores energias (como visto no 1172_10W, 1173 e NanoTom:	70
Gráfico 4. Os volumes de SCR apresentados na Tabela 9 plotados em gráficos de barra. Nota-se que a utilização do Unsharp sempre foi acompanhada pelo ganho de volume.	76
Gráfico 6. Análise estatística dos valores relativos ao volume do SCR, distribuído por filtro/combinacao de filtros, no grupo 1172_8W:	77
Gráfico 7. Análise estatística dos valores relativos ao volume do SCR, distribuído por filtro/combinacao de filtros, no grupo 1172_10W:	78
Gráfico 8. <i>Análise estatística dos valores relativos ao volume do SCR, distribuído por filtro/combinacao de filtros, no grupo 1173:</i>	<i>78</i>
Gráfico 9. Análise estatística dos valores relativos ao volume do SCR, distribuído por filtro/combinacao de filtros, no grupo NanoTom:	79
Gráfico 10. Gráfico em barras, relativas aos valores de desvio padrão apresentados por diferentes filtros/combinacao de filtros, em diferentes energias e aparelhos. Nota-se a diminuição do mesmo ao uso dos filtros Kuwahara e Unsharp mask:	79
Gráfico 11. Grupo 1172_8W: Média do volume do SCR após filtragem e segmentação. Eixo X: # 1, 4, 7, 16 e 22 referentes a MM60; # 2, 5, 8, 17, 23, Otsu 2D; e, # 3, 6, 9, 18, 24, Otsu 3D.	86
Gráfico 12. Grupo 1172_10 W: Média do v olume do SCR após filtragem e segmentação. Eixo X: # 1, 4, 7, 16 e 22 referentes a MM60; # 2, 5, 8, 17, 23, Otsu 2D; e, # 3, 6, 9, 18, 24, Otsu 3D	86
Gráfico 13. Grupo 1173: Média do v olume do SCR após filtragem e segmentação. Eixo X: # 1, 4, 7, 16 e 22 referentes a MM60; # 2, 5, 8, 17, 23, Otsu 2D; e, # 3, 6, 9, 18, 24, Otsu 3D.	87

Gráfico 14. Grupo NanoTom: Média do volume do SCR após filtragem e segmentação. Eixo X: # 1, 4, 7, 16 e 22 referentes a MM60; # 2, 5, 8, 17, 23, Otsu 2D; e, # 3, 6, 9, 18, 24, Otsu 3D. 87

Gráfico 15. Desvio padrão dos diferentes algoritmos de segmentação (cores) separados entre os aparelhos e energias correspondentes. 88

LISTA DE SIGLAS

CBCT	<i>Cone-beam computed tomography</i> – Tomografia Computadorizada de feixe cônico
RE	Resolução Espacial
kV	Quilovolts
μ A	Microampères
Micro-CT	Microtomografia computadorizada
MTF	<i>Modulation Transfer Function</i> – Função de Transferência Modular
SCR	Sistema de canais radiculares
SNR	<i>Signal to Noise Ratio</i> – Razão Sinal-Ruído

1. INTRODUÇÃO

O fracasso na terapia endodôntica está relacionado à inabilidade de se limpar e desinfetar o Sistema de Canais Radiculares (SCR). Pequenas estruturas anatômicas como as ramificações, istmos, pequenos canais e comunicações entre canais, além de outras irregularidades, estão altamente relacionadas à presença de bactérias persistentes ao tratamento. Nestes sítios, estas podem ficar protegidas dos efeitos da instrumentação e ação de irrigantes químicos, da defesa imune do hospedeiro e da ação de antibióticos sistêmicos usados nesta terapia. Conseqüentemente à persistência da infecção, há o impedimento da cura da inflamação perirradicular (INGLE & BEVERIDGE, 1976; SIQUEIRA & RÔÇAS, 2008; VERMA & LOVE, 2011).

Ao longo da história da Endodontia, diferentes técnicas foram utilizadas com o intuito de se estudar a anatomia interna dos dentes e os efeitos do uso de instrumentos e substâncias químicas durante o tratamento dos canais radiculares. A técnica ideal deve ser precisa, simples, não destrutiva e, o mais importante, possível de ser empregada *in vivo*. (NEELAKANTAN *et al.*, 2010) A microtomografia computadorizada (microCT) é, atualmente, a técnica que mais se aproxima das características supracitadas, com a única limitação de ainda não permitir o emprego *in vivo*. (VERMA & LOVE, 2011)

Nas últimas décadas, diversos estudos mostraram que, através de imagens em escala micrométrica, a microCT permitiu a visualização de pequenas estruturas do SCR e o conhecimento de detalhes não vistos pelas técnicas anteriores como, por exemplo, a grande diversidade de configurações e estruturas anatômicas relacionadas ao fracasso da terapia endodôntica (VERMA & LOVE, 2011; SOMMA *et al.*, 2009; PAQUÉ *et al.*, 2010; VERMA & LOVE, 2011).

Talvez por ser a Endodontia, dentre as especialidades odontológicas, a que mais se utiliza de métodos radiográficos em sua clínica e tratamento, houve grande interesse por parte dos pesquisadores deste campo na tomografia computadorizada no início da década de 90. Entretanto, para análises da anatomia dos canais radiculares, a resolução dos tomógrafos clínicos nesta época não era suficiente, sendo da ordem de milímetros. Algumas adaptações então foram realizadas e permitiram uma melhora na resolução espacial (LOPES, 1988), desenvolvendo a microCT que, além de uma melhora na resolução da imagem, permite o uso de ferramentas tridimensionais de manipulação e aprimoramento de imagens que possibilitam um maior conhecimento da morfologia dentária, assim como a visualização em volume da área de interesse (VERMA & LOVE, 2011; LOPES *et al.*, 1997; OLIVEIRA, 2012).

Esta técnica de ensaio não-destrutivo possibilita o estudo do SCR dentário de maneira precisa, com a possibilidade de estudo da anatomia interna ser quantificada e observada sob várias angulações diferentes, com resolução espacial da ordem de micrômetros (VERMA & LOVE, 2011; SOMMA *et al.*, 2009). Devido ao fato dos dentes serem compostos por tecidos com diferentes densidades (tecido pulpar, dentina e esmalte), tornou-se possível o uso da técnica de microCT em odontologia (NIELSEN *et al.*, 1995) mostrando aumento em popularidade e valor de aplicação nos estudos científicos odontológicos (GAO *et al.*, 2009) (**Figura 1**).

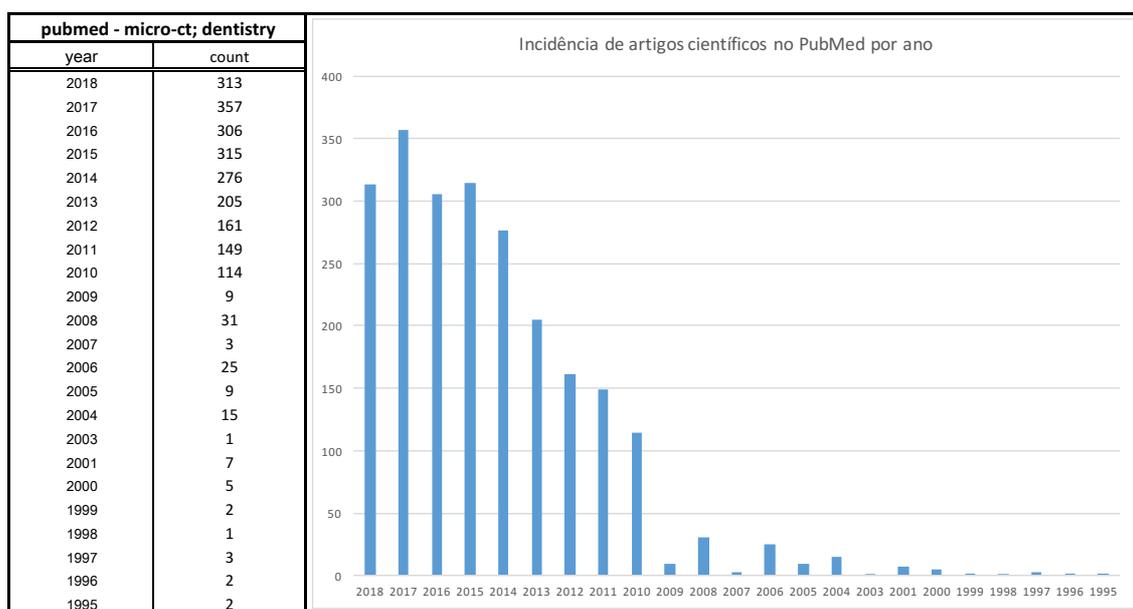


Figura 1. Número de artigos publicados no PubMed, por ano, em pesquisa com as palavras “Micro-CT” + “Dentistry” (pesquisa realizada dia 04 de Janeiro de 2019) revelam grande aumento de publicações nos últimos anos.

A precisão e reprodutibilidade da microCT foi amplamente estudada ao longo do período apresentado na Figura 1, sendo demonstrada a sua habilidade em visualizar estruturas dentárias de maneira detalhada e precisa, fornecendo dados reprodutíveis e mensuráveis em três dimensões (3D) (RHODES *et al.*, 2000; Robinson *et al.*, 2012; PETERS *et al.* 2000, 2001).

A vantagem desta técnica no estudo do SCR perante as demais é notória, porém, é dependente da qualidade da imagem final adquirida e, embora o resultado das tomografias computadorizadas seja de natureza visual e, portanto, passível de uma interpretação direta, implicações sutis inerentes a esta técnica podem tornar a análise dos dados problemática para uso o quantitativo (VERMA & LOVE, 2011; RUSS, 2017).

Isto posto, algumas considerações a respeito da tecnologia de microCT devem ser avaliadas quando se propõe sua utilização. Dentre elas, podemos citar seu alto custo financeiro; a grande quantidade de horas dedicadas ao laboratório (“*labor-intensive*”) para aquisição e processamento dos dados; e, principalmente, da necessidade de conhecimento de conceitos básicos que demandam uma extensa curva de aprendizado, a fim de que se consiga a *expertise* necessária à quantificação e interpretação dos dados de maneira fidedigna (DE-DEUS *et al.*, 2014).

Os estudos desenvolvidos com microCT têm disponibilizado informações importantes na terapia endodôntica, principalmente em áreas como a instrumentação de canais radiculares; o estudo da anatomia interna; a presença de trincas e fraturas; a geração de *debris* dentinários; e, a obturação dos canais radiculares (RHODES *et al.*, 1999;; PETERS *et al.* 2000 VERMA & LOVE, 2011; Robinson *et al.*, 2012; DE-DEUS *et al.*, 2014). Em três destes cinco temas (no estudo da instrumentação dos canais radiculares, na geração de trincas e fraturas, e no estudo da anatomia interna) temos somente dois tipos de materiais que compõem o objeto a ser estudado: a dentina e o sistema de canais radiculares. Em imagens radiográficas, o SCR pode ser considerado como poro (o vazio), por apresentar coeficiente de atenuação muito baixo e inferior à dentina. Desta forma, a definição correta do limite entre a borda da dentina e o SCR é o fator mais importante em sua visualização e posterior correta quantificação, estando intimamente relacionado ao domínio dos parâmetros utilizados nesta metodologia, desde a aquisição até o processamento da imagem final (VERMA & LOVE, 2011; RUSS, 2017).

Desta forma, devem-se otimizar os parâmetros de aquisição buscando uma qualidade de imagem final adequada, apresentando um bom contraste entre os dois materiais; uma resolução espacial sensível a ponto de permitir a visualização de pequenas estruturas anatômicas e de trincas; e um baixo nível de ruído, para que seja permitida a definição da borda da dentina da forma mais fidedigna possível.

Neste contexto, o conhecimento a respeito das características da microCT deve assegurar a escolha dos melhores parâmetros de aquisição e reconstrução da imagem, melhorando o desempenho, de modo a operá-lo sob os melhores parâmetros físicos para uma determinada aplicação. Isto resulta na extração de uma imagem de alta qualidade de diagnóstico, a mais fidedigna possível à realidade.

Desta forma, um parâmetro de aquisição pode se sobressair em relação aos demais na busca pela melhor qualidade de imagem e aplicação diagnóstica, e as condições de operação do sistema não devem ser genericamente definidas. Deve-se

considerar qual será a sua aplicação, pois a simples operação do sistema não é suficiente para se alcançar resultados satisfatórios, assim como permitir a comparação de resultados e replicação de estudos.

1.1 Apresentação do Problema

Em um método baseado em imagens, a referência a “menor estrutura que pode ser detectada” é de suma importância para se permitir a comparação de resultados entre estudos. É fundamental para isso, que se saiba os parâmetros que foram utilizados na extração das imagens e como foram preparados para os cálculos (PEYRIN, *et al.*, 2014). Embora em outras áreas como a geologia e engenharia de materiais existam trabalhos em que se discutiu e justificou a influência desses parâmetros na qualidade de imagem (MACHADO *et al.*, 2014; MACHADO, 2015; OLIVEIRA, 2012; TELES, 2016; VIDAL, 2014), na literatura endodôntica não existe um protocolo padrão bem estabelecido para esta metodologia.

Esta falta de referência padronizada gerou um equívoco comum na literatura endodôntica, onde o tamanho de pixel e a resolução espacial têm sido usados de maneira confusa em diferentes contextos. Quase a totalidade dos trabalhos que utilizaram a microCT em odontologia foram realizados considerando e descrevendo parâmetros como tamanho de pixel e matriz do detector, devido a sua forte influência na resolução espacial. Entretanto, não levam em consideração outros parâmetros importantes que atuam indiretamente na resolução espacial (EUROPEAN STANDARD, 2004). Neste sentido, os trabalhos na área da odontologia que utilizaram a técnica de microCT, de forma geral, não informam a correta resolução espacial, mas sim as características inerentes à prática tomográfica, tais como marca e modelo do aparelho, energia utilizada e o tamanho do *pixel* (VERMA & LOVE, 2011; MANNOCCI *et al.*, 2005).

Em vista disso, nota-se uma lacuna na transferência de conhecimento entre a comunidade técnica e a odontológica. Essa falta de transferência de conhecimento pode introduzir medições e extravio de informações que poderiam ser evitadas com um melhor entendimento da influência de parâmetros e dispositivos nos fatores de qualidade de imagem, visto que a MicroCT é uma ferramenta amplamente utilizada para várias pesquisas de odontologia. O uso difundido desta tecnologia resultou em várias preocupações sobre a sua justificção, porém, não sobre a otimização de parâmetros e correlação de resultados. A ampla variedade de materiais e requisitos de resolução para investigações odontológicas geralmente requerem o desenvolvimento de processos especializados e, invariavelmente, seleção caso a caso dos parâmetros de aquisição e processamento de imagens que, até o momento, não existem na literatura.

1.2 Objetivos

A proposta fundamental da presente tese é, além de fazer uma fundamentação teórica acessível ao profissional da área médica, com seu funcionamento e limitações, otimizar a aplicação e desenvolver um protocolo padrão para utilização da microCT na Odontologia, contribuindo para a transferência de conhecimento entre físicos e engenheiros, por um lado, e pesquisadores dentistas usuários de microCT, por outro.

Nesse contexto, objetiva-se a qualidade da imagem desde a sua aquisição, para que seja possível um melhor processamento de imagem pós-reconstrução, aprimorando o aspecto qualitativo e quantitativo. Busca-se contribuir para a definição e padronização dos parâmetros, com o intuito de no futuro, a comparação de resultados, assim como a nomenclatura utilizada seja simplificada (PEYRIN, F. et al., 2014).

Além disso, objetiva-se obter os melhores parâmetros a fim de otimizar as análises, através de resultados quantitativos, e avaliar separadamente a influência dos principais parâmetros comumente ajustáveis nos tomógrafos na qualidade da imagem, definindo assim os melhores parâmetros físicos a serem usados na análise de dentes. Por fim, o processamento de imagens será abordado através de uma comparação entre filtros e métodos de segmentação, com o objetivo de avaliar a sua eficiência para esse tipo de amostra.

Pensando nisso, o propósito desse trabalho foi avaliar os parâmetros de aquisição, como: tamanho de *pixel*, energia e corrente; assim como o processamento de imagens, através de ensaios explanatórios de acordo com o objeto de análise: o dente. Desta forma, buscou-se elucidar a influência de parâmetros físicos na qualidade da imagem micro-tomográfica, sendo eles: A influência de certas propriedades em diferentes equipamentos de microCT na resolução espacial; a influência da potência energética (kV e μ A) no contraste, ruído e resolução da imagem final; e discutir o processamento das imagens tomográficas, como a utilização de filtros e métodos de segmentação.

1.3 Organização do trabalho

Este trabalho está dividido em seis capítulos, no Capítulo 2 será apresentada a fundamentação teórica necessária para a compreensão do tema do trabalho. Serão abordados temas como os parâmetros físicos de aquisição, suas relações com os parâmetros de qualidade de imagem (Ruído, contraste e resolução espacial), de reconstrução, e o processamento das imagens e suas características.

No Capítulo 3 serão descritos os materiais e métodos, assim como os equipamentos utilizados e suas características específicas, que foram comumente utilizados em todas as quatro hipóteses trabalhadas.

O Capítulo 4 abordará as quatro hipóteses formuladas, se apresentando em quatro subdivisões que se dedicarão a um assunto, contendo uma pequena introdução com fundamentação teórica, materiais e métodos e os resultados daquele tema, quais sejam:

- Artigo 1: Resolução espacial: as informações descritas em trabalhos de microCT em endodontia são suficientes para a correta interpretação, comparação e replicação de resultados adquiridos?
- Artigo 2: A importância dos parâmetros energéticos da aquisição tomográfica na resolução espacial e sua relação com ruído.
- Artigo 3: O uso de filtros no processamento da imagem tomográfica e sua influência na visualização e quantificação de estruturas do SCR.
- Artigo 4: Qual o algoritmo de segmentação ideal para trabalhos na Endodontia?

No Capítulo 5 serão discutidos resultados de uma maneira ampla, relacionando as quatro hipóteses trabalhadas, assim como as limitações do estudo e sugestões para trabalhos futuros. E, finalmente, no Capítulo 6 serão apresentadas as conclusões finais baseadas nos estudos propostos.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Os primeiros métodos científicos de estudo do SCR se basearam na moldagem do SCR e no corte ou desgaste da dentina para visualização deste. HESS (1925), utilizando uma técnica chamada de vulcanização, duplicava a anatomia da cavidade pulpar através do uso de vulcanite, estudando os moldes gerados. No entanto, devido à vulcanite não penetrar em todas as ramificações do canal, e ser levada a pequenas trincas e defeitos produzidos durante o procedimento de secagem e processamento do dente, não poderiam ser considerados como réplicas fiéis do SCR (SKIDMORE & BJORN DAL, 1971).

Após a metade do século XX, novas técnicas se propuseram a moldar o SCR através de diferentes materiais, como a que emprega a resina de poliéster (SKIDMORE & BJORN DAL, 1971) e o silicone de impressão (DAVIS *et al.*, 1972). Assim como o método de vulcanização, estas técnicas necessitavam da manipulação prévia dos canais radiculares através de limagem para posterior preenchimento com o material de moldagem (SKIDMORE & BJORN DAL, 1971; DAVIS *et al.*, 1972). Estas técnicas necessitam de preparos ou debridamento prévio do canal radicular, como a moldagem com vulcanite, silicone de impressão e resina de poliéster, modificavam a anatomia original e desta forma, qualquer descrição, avaliação ou conclusão relatadas por estes trabalhos não poderiam ser consideradas precisas (GREEN, 1960).

Anteriormente ao desenvolvimento da microCT, a técnica de diafanização foi, por muitos anos, considerada o padrão ouro na análise qualitativa do SCR. DAVIS *et al.* (1972) utilizaram esta técnica associada à análise por microscópio, onde, após a estrutura dentária ser dissolvida pelo uso de ácidos (diafanizados) era avaliada por transiluminação. Alguns autores, após pequenas intervenções físicas, utilizavam diferentes tinturas, como a resina de poliéster corada com pigmentos vermelhos, para um maior destaque do SCR e facilitação da avaliação. Porém, além da sensibilidade do método, que gerava grande quantidade de perda de amostras e tempo de preparo, a maior limitação desta metodologia era a impossibilidade da análise quantitativa (SKIDMORE & BJORN DAL, 1971).

As demais técnicas como a de secção ou desgaste, associadas ou não ao uso de microscópios óticos ou Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM); a Histologia; e, por meio de avaliações clínicas com ou sem o auxílio de magnificação, excetuando os métodos radiográficos, todas apresentavam algum grau de manipulação ou até a destruição do espécime como uma característica inerente. As técnicas radiográficas, por sua vez, apresentavam as limitações associadas à visão bidimensional de um volume, como: distorções, diferentes angulações e sobreposição de estruturas, sendo

considerado um método pouco eficiente na visualização das variações da morfologia interna dos canais radiculares (TROPE et al., 1986; ALAVI et al., 2002)

Em consequência destas limitações, existe na literatura endodôntica uma grande diferença entre os dados (como a incidência de canais nas diferentes raízes) e as definições provenientes destas técnicas de estudo, não somente entre as diferentes técnicas, como também entre estudos que utilizaram a mesma técnica (POMERANZ & FISHELBERG, 1974; WELLER & HARTWELL, 1989; CLEGHORN *et al.*, 2006; NEAVERTH *et al.*, 1987; CLEGHORN *et al.*, 2006).

A aplicação da TC em Endodontia foi feita primeiramente por TACHIBANA & MATSUMOTO (1990), onde concluíram que a reconstrução tridimensional era possível, porém a resolução utilizada na época (0,6 mm) não possibilitava uma análise detalhada das estruturas da anatomia dentária interna. GAMBILL *et al.* (1996) avaliaram dois sistemas de instrumentação endodôntica utilizando um aparelho que oferecia um tamanho de *pixel* de 1,5 mm. Este estudo concluiu que o método é passível de repetição e não invasivo, sendo indicado aos estudos em Endodontia, porém não houve discussão de parâmetros de aquisição.

A CBCT é usada diariamente na clínica para a imageamento dos maxilares e dentes, porém sua resolução está em ordem de órgão, não sendo suficiente para revelar pequenos detalhes da microestrutura óssea ou do SCR. Uma vez que um ganho na resolução espacial na TC é alcançado ao custo de um aumento da exposição à radiação, isso limita a possibilidade de geração de imagens de alta qualidade *in vivo* (PEYRIN, F. et al., 2014).

Desta forma, a microCT apresenta algumas vantagens em relação à CBCT que são basicamente advindas da não limitação de dose de radiação durante o escaneamento, já que se trata de inspeção *in vitro*. Por conseguinte, fontes de raios X mais potentes podem ser utilizadas (com maiores energias e consequentemente com maior poder de penetração), maiores tempos de aquisição, e menores tamanhos focais que fornecem uma melhor resolução espacial (KETCHAM & CARLSON, 2001; LIMA, 2002; LIMA, 2006).

2.1 Funcionamento de Tomografia

O prefixo grego *tomo* significa “corte” ou “seção”, desta forma tomografia é a técnica para se cortar, de modo virtual, o objeto, utilizando a energia dos raios X para se revelar os detalhes interiores (COTTON *et al.*, 2007). O princípio genérico da tomografia computadorizada (TC) baseia-se na combinação da aquisição de radiografias 2D e processamento de dados para produzir imagens tridimensionais (3D)

do objeto. Esta aquisição de dados é realizada girando uma fonte de raios-X ao redor do paciente, ou da amostra, e medindo a atenuação dos raios X quando eles passam pelo corpo. Quando a fonte de raios X é girada circularmente ao redor da amostra, um conjunto de radiografias 2D (projeções) em diferentes ângulos de visão é registrado, e ao final, reconstruído (PEYRIN, F. et al., 2014).

A Tomografia computadorizada de feixe cônico, ou *Cone-beam computed tomography* (CBCT), foi elaborada a partir do desenvolvimento de algoritmos computacionais que permitiram a utilização de dados de projeções bidimensionais coletados utilizando um feixe de radiação em forma de cone, em um único giro. Desta forma, é diferente do princípio clássico de aquisição da tomografia espiral que se baseia em um feixe de aquisição em forma de leque (CAVALCANTI, 2010).

A micro-tomografia computadorizada (microCT) possui o mesmo princípio de feixe cônico da CBCT, entretanto foi especialmente desenvolvida para a inspeção de pequenas estruturas, e apresenta algumas adaptações com a finalidade de permitir uma melhora na resolução espacial. À vista disso, é uma técnica não-destrutiva que combina o uso dos raios-X obtidos por tubos de alta potência com computadores adaptados para processar grande volume de informação e produzir imagens com alto grau de resolução. (LOPES, 1988; LOPES *et al.*, 1997; OLIVEIRA, 2012).

O princípio fundamental por trás da tomografia computadorizada é adquirir múltiplos conjuntos de visões de um objeto em uma série de orientações angulares. Por este meio, dados dimensionais adicionais são obtidos em comparação com a radiografia convencional, na qual há apenas uma projeção (KETCHAM, R.A. et al., 2001). Desta forma, dentro do aparelho de microCT existem dois componentes principais, em uma relação simples e direta, posicionados em extremos opostos: o tubo de raios-X e um detector, permitindo-se assim a colocação de filtros em frente à fonte de raios-X. O corpo de prova é posicionado entre o tubo e o detector, e pode-se realizar tanto um giro total de 360°, quanto somente de 180°. Grande parte dos equipamentos para investigação *in vitro* existentes em laboratório utiliza esta configuração em que somente o objeto gira em torno de seu eixo z e o conjunto fonte-detector permanece imóvel, permitindo, desta forma, que as projeções sejam feitas com menos vibrações, além de obter um número maior de projeções e, conseqüentemente, uma melhora na resolução (OLIVEIRA, 2012).

A cada passo de rotação (determinado grau de giro) o aparelho adquire uma ou mais imagens-base, tendo ao final do processo, diversas imagens sob diferentes ângulos e perspectivas que trazem consigo a informação de um conjunto de medidas de intensidade de raios-X. Este grau de giro é determinado ao se inserir os parâmetros de aquisição e, ao término do giro, essa sequência de imagens-base (*raw data*) é

reconstruída em um computador acoplado ao microtomógrafo (COHENCA *et al.*, 2007; PATEL *et al.*, 2009).

Estas projeções com as informações de medidas de atenuação não fornecem diretamente a imagem, mas um chamado sinograma. Em seguida, usando um algoritmo de reconstrução tomográfica, como a Projeção por Retroprojeção (FBP), contando com uma relação matemática exata que relaciona a imagem ao seu sinograma, obtém-se a imagem da TC. (PEYRIN, F. *et al.*, 2014) Nesta tecnologia, todos os algoritmos são computados e somente após toda a aquisição são reformatados em imagens (VANNIER, 2003).

Para criar uma imagem, o sistema deve segmentar os dados brutos (*raw data*) em seções pequenas, sendo a matriz do detector, uma grade utilizada para quebrar os dados em linhas e colunas de quadrados pequenos. O objeto escaneado se apresenta em um volume tridimensional (3D) e pode ser reorientado em cortes para criar imagens digitais bidimensionais, que são chamadas *slices* ou fatias pois correspondem ao que seria visto se o objeto fosse fatiado, em determinada espessura, ao longo do plano de varredura. (KETCHAM, R.A. *et al.*, 2001) Estas fatias não apresentam distorções e são definidas de acordo com o que se deseja avaliar (SCARFE *et al.*, 2006).

Toda imagem digital é mostrada em forma de uma matriz (N x M), sendo o elemento de imagem formado pela interseção das linhas e colunas denominado *pixel* (forma derivada da expressão "*picture element*"). Cada quadrado é um elemento de imagem, um *pixel*. Quanto maior o número de linhas e colunas, maior será o número de pixels da imagem e, conseqüentemente, melhor será a resolução da imagem naquele aparelho (KETCHAM & CARLSON, 2001).

Da mesma forma que uma imagem bidimensional é dividida em *pixels*, a imagem tomográfica (tridimensional) é dividida em *voxels*. Essencialmente, um *voxel* é um *pixel* tridimensional isotrópico, ou seja, uma figura de lados geométricos iguais, permitindo assim que um objeto seja medido de maneira precisa em diferentes direções (COTTON *et al.*, 2007) Cada *voxel* traz uma informação, representada em uma escala de cinza, correspondente à atenuação dos raios X, que reflete a proporção de raios dispersos ou absorvidos à medida que passam pela amostra. Esta atenuação depende primariamente da energia dos raios X, assim como da densidade e do número atômico do objeto escaneado (KETCHAM & CARLSON, 2001).

Seu valor representa uma quantidade proporcional à atenuação dos raios X após interagirem com o objeto e serem registrados pelo detector. Para cada valor do pixel designa-se um valor de cinza que é proporcional à densidade do material inspecionado, ponto a ponto, formando-se assim imagens com diferentes tons de cinza, que por sua vez, correspondem às diferentes densidades dos material.

A quantidade de *pixels* que estão presentes na imagem é determinada pela matriz utilizada do detector, desta forma, uma aquisição realizada com uma matriz de detector de 1024x1024 terá 1024 *pixels* ao longo das linhas e 1024 *pixels* para as colunas. Portanto, o tamanho da matriz do detector é um dos fatores que controlam o tamanho do *pixel* (ROMANS, 2013). Assim como a matriz do detector, cada *pixel* da imagem tem uma largura X e um comprimento Y. O *pixel* é a menor unidade bidimensional de uma imagem digital. Tendo em vista que cada *pixel* representa um pedaço da imagem, quanto menor o *pixel* (e, portanto mais *pixels* de mesmo tamanho), melhor será a definição da imagem.

2.2 Fonte de Raios X

Existem diversas variáveis entre os diferentes equipamentos de microCT, porém, as mais importantes, que determinam a eficácia de uma fonte de raios-X para uma determinada tarefa são: o tamanho do ponto focal; o espectro das energias de raios X geradas; e, a intensidade dos raios X.

O tamanho do ponto focal define parcialmente a resolução espacial potencial de um sistema de TC determinando o número de possíveis caminhos de detecção de origem que podem cruzar um determinado ponto no objeto que está sendo varrido. Quanto mais caminhos de detecção de origem existirem, mais desfoque de recursos haverá. A redução no diâmetro do foco no tubo de raios-X, é um atributo muito importante do ensaio de microCT, pois quanto menor for esse parâmetro melhor será a focalização das estruturas inspecionadas, pois está relacionada com a qualidade da imagem adquirida. O tamanho do foco pode variar desde 4 a 1 mm (foco normal) até 100 a 1 μm (micro foco), passando pelas dimensões de 1 a 0,1 mm (mini foco) (LIMA, 2002). Os tubos de raios X microfoco, por possuírem um tamanho focal pequeno, apresentam mais outras duas vantagens que são: uma alta produção de radiação e uma boa estabilidade na energia máxima (NABEL *et al.*, 1986). O tamanho do ponto focal está intimamente ligado à resolução espacial e será melhor debatido, assim como sua influência neste, posteriormente nesta tese.

A diferença de potencial ao longo do tubo de raios X, medido em kilovolts (kV) define a capacidade de penetração destes, bem como a sua atenuação relativa esperada à medida que passam através de materiais de diferentes densidades. Os raios X de alta energia penetram mais eficientemente que os de baixa energia, mas são menos sensíveis a mudanças na densidade e composição do material. À medida que os raios X passam pelo objeto que está sendo escaneado, o sinal é atenuado por espalhamento e absorção.

A melhor maneira de obter informações sobre o que se pode esperar ao escanear uma amostra é fazer os gráficos dos coeficientes de atenuação linear dos materiais componentes desta sobre a faixa do espectro de raios X que se pretende utilizar (KETCHAM & CARLSON, 2001). Entretanto, até o momento, não há na literatura um trabalho que tenha definido consistentemente esta característica da dentina. O espectro de energia está intimamente ligado à resolução em densidade e será melhor debatido, assim como a sua influência neste, posteriormente nesta tese.

A intensidade de raios X, medida em microampère (μA) afeta diretamente a relação sinal-ruído (SNR) e, portanto, a clareza da imagem. Intensidades mais altas melhoram as estatísticas de contagem subjacentes, mas geralmente exigem um ponto focal maior (KETCHAM & CARLSON, 2001) Esta influência na SNR será melhor debatida posteriormente nesta tese.

2.3 Detector

Os detectores de tomografia computadorizada fazem uso de materiais cintilantes nos quais os raios X de entrada produzem *flashes* de luz contados. Os detectores influenciam a qualidade da imagem através de seu tamanho e quantidade, e através de sua eficiência na detecção do espectro de energia gerado pela fonte (KETCHAM & CARLSON, 2001). A eficiência e a rapidez com que a conversão é realizada são características essenciais dos detectores de raios-X. (PAUWELS *et al.*, 2015)

O tamanho de um detector individual determina a quantidade média de um objeto em uma leitura de intensidade única, enquanto o número de detectores determina quantos dados podem ser coletados simultaneamente. (KETCHAM & CARLSON, 2001), podendo ser composto por um cintilador que converte fótons de raios X em luz acoplados a um detector 2D. (PEYRIN *et al.*, 2014)

As calibrações são necessárias para estabelecer as características do sinal de raios-X, conforme lido pelos detectores em condições de escaneamento, e para reduzir as incertezas geométricas, sendo que as duas principais calibrações de sinal são: compensação e ganho, e estas determinam as leituras do detector com raios X desligados e com raios X nas condições de varredura, respectivamente (KETCHAM & CARLSON, 2001)

Nos aparelhos de microCT, diferentes tipos de detectores são usados, sendo os mais comuns os intensificadores de imagem (*image intensifier - II*) e os detectores de tela plana (*Flat panel detectors - FPDs*) (PAUWELS, R. Et al., 2015). O detector *flat-panel* pode providenciar uma resolução espacial melhor que o detector *image-intensifier* em pixel size igual (BABA, *et al.*, 2002), entretanto, detectores *Flat Panels* apresentam

uma crescente degradação na qualidade de imagem devido ao surgimento de *pixels* queimados (“*pixels* mortos”) ou com perda de eficiência em sua matriz. Este desgaste natural aumenta com o tempo de operação do detector (PADGETT & KOTRE, 2004).

2.4 Parâmetros físicos e qualidade da imagem

A capacidade dos raios X em penetrar e interagir com a matéria, de diferentes formas de acordo com a sua composição, viabilizou a sua utilização na análise de estruturas internas de um objeto ou material (STOCKS, 1999). Quando fótons de raios X interagem com a matéria, uma parte destes é absorvida enquanto o restante a atravessa, dependendo diretamente do coeficiente de atenuação (BUZUG, 2008) e da energia do feixe de raios X aplicada sobre ele. Por exemplo, um objeto constituído por mais de um material ou elemento químico possuirá diferentes coeficientes de atenuação linear e, conseqüentemente, apresentará diferentes fases em sua imagem tomográfica.

Em todo trabalho de microCT busca-se a visualização destas diferentes fases, que correspondem às estruturas do objeto através da melhor qualidade de imagem possível e viável, sendo esta relacionada intimamente à nitidez que, por definição, é a capacidade do sistema em definir a borda do objeto. A nitidez da imagem está ligada à desfocagem geométrica (penumbra) e à ampliação da imagem; já o contraste está relacionado com o coeficiente de atenuação.

Os principais aspectos básicos na descrição da qualidade de imagem em microCT são o ruído e as resoluções espacial e em densidade, também referenciada como contraste, que estão intimamente ligados a esta definição da borda. Não existe uma hierarquia entre estes conceitos, sendo assim, nenhum é mais importante na qualidade da imagem que o outro, porém, alguns desses parâmetros são interdependentes, por exemplo, a clássica interdependência e trade-off entre resolução espacial e ruído, implicando que todos os três parâmetros devem sempre ser considerados juntos ao julgar a qualidade da imagem.

Alguns autores, principalmente na literatura relacionada à TC clínica, como a CBCT e espiral, consideram o artefato como um parâmetro de qualidade de imagem, porém isto não será seguido nesta tese (PAUWELS, R. *et al.*, 2015).

O desempenho de um sistema de microCT está intimamente relacionado à qualidade da imagem gerada e, geralmente, são avaliados o tamanho focal do tubo de raios X, o nível de ruído, a resolução espacial e a resolução em densidade do sistema (contraste).

2.4.1. Resolução espacial

A resolução espacial é uma medida direta da capacidade do sistema tomográfico em conseguir o melhor reconhecimento possível das características do objeto, podendo ser considerada a medida mais relevante de um dispositivo tomográfico para as metas de pesquisa e produção (BRUKER, 2017, CARL ZEISS MICROSCOPY GMBH, 2013). Medição científica padrão usada para diferentes metodologias de pesquisa, desde CTs médicos a microscópios ópticos comuns, fornecendo uma medida direta da capacidade de imagem completa do sistema e refere-se à separação mínima na qual um par de recursos pode ser resolvido por um sistema de geração de imagens. Desta forma, a resolução significativa deve refletir o desempenho total do sistema, basear-se em padrões que permitam a comparação imparcial, a fim de fazer uma comparação objetiva dos sistemas.

A resolução espacial é a métrica mais significativa e abrangente, pois mede a saída do sistema, a imagem final fornecendo uma medida direta de um sistema em sua plena capacidade. Para isto, considera todas as características do sistema de imagens, incluindo o tamanho do ponto-fonte de raios X; o tamanho do elemento detector; a resolução do detector; estabilidade vibracional, elétrica e térmica; geometria de ampliação e condições de imagem. Devido a esta abrangência, dos três pilares da qualidade de imagens, para tomografia, talvez a resolução espacial seja o mais significativo, devendo, portanto, ser usado para comparar sistemas objetivamente. (PAUWELS, *et al.*, 2015; CARL ZEISS MICROSCOPY GMBH, 2013; BRUKER, 2017)

Ao considerar a resolução espacial de um sistema, deve-se considerar um aspecto conhecido como nitidez. Nitidez representa a capacidade que um sistema tem em definir a borda do objeto, e é avaliada de acordo com o borramento gerado na imagem em um sistema (KETCHAM & CARLSON, 2001; ROMANS, 2013). O borramento pode ser causado por fatores extrínsecos, tais como o movimento do paciente, o que não ocorre na micro-tomografia, pois o objeto de estudo é estático; ou pode resultar de fatores intrínsecos à técnica radiográfica, uma vez que a interação da radiação com a matéria ocorre de forma estatística. Além da precisão do sistema mecânico do aparelho, este parâmetro operacional também é afetado pelo algoritmo de reconstrução, como a utilização de filtros de suavização (PAUWELS, *et al.*, 2015; LIMA, 2002), sendo definida como o menor espaço entre dois objetos que pode ser discernível e corresponde ao tamanho geométrico do menor objeto passível de visualização.

Resolução espacial, ou nitidez, refere-se à capacidade de discriminar pequenas estruturas em uma imagem (PAUWELS, *et al.*, 2015). Por esta definição, resolução

muitas vezes e confundido com visibilidade. Pequenos pontos podem ser visíveis ou não dependendo do equilíbrio entre o tamanho do objeto e seu contraste em relação ao fundo, que é determinado pela diferença de densidade e o nível de ruído da imagem (PAUWELS, *et al.*, 2015).

Embora a definição de resolução possa ser considerada direta, vários termos não equivalentes são usados para representar as capacidades de resolução de instrumentos tomográficos, entre os quais podemos citar: resolução espacial; tamanho de pixel; tamanho do voxel; e, a resolução nominal. Cada um desses termos transmite representações muito diferentes do desempenho de um sistema, sendo importante compreender esses numerosos termos usados na literatura para descrever a resolução que, se não for claramente entendida, pode confundir a comparação entre sistemas (CARL ZEISS MICROSCOPY GMBH, 2013).

O mais utilizado dentre ele é o "*pixel size*" ou tamanho do pixel, e é resultado de um cálculo geométrico que se refere a área da amostra que será imageada em um único pixel do detector. Este cálculo leva em consideração somente o tamanho do pixel do detector e a geometria do sistema, sem referência ao tamanho do ponto focal na fonte de radiação; a estabilidade vibracional, elétrica e térmica; a magnificação geométrica, a desfocagem da fonte, a estabilidade desta e do sistema, artefatos de imagem, e outros fatores de fundamental influência positiva ou negativamente na qualidade da imagem final. (BRUKER, 2017)

Deve-se ter em mente que o tamanho do pixel é apenas um dos fatores utilizados no cálculo do valor da resolução espacial segundo a norma EN14784-1 (EUROPEAN STANDARD, 2004) que propõe como, objetivamente, a performance em resolução deve ser avaliada e medida. Este valor se torna compreensível por ser medido na imagem resultante, e leva em conta todas as características na formação da imagem (BRUKER, 2017).

O "*pixel size*", como é referenciado na literatura, é um cálculo geométrico que se refere a uma área da seção transversal da amostra que é criada em um único pixel do detector. Por ser fornecido pelo aparelho no momento da aquisição e por ser encontrado no *logfile* (arquivo de texto que contém todas os parâmetros de aquisição necessários para a posterior reconstrução da imagem), uma confusão comum é supor que este é equivalente à resolução espacial do sistema. Em vez disso, é um termo puramente geométrico que se torna sem sentido quando outros fatores de resolução do sistema, como estabilidade ou desfoque de origem, são dominantes. (CARL ZEISS MICROSCOPY GMBH, 2013)

O tamanho de pixel é resultante de um cálculo matemático que considera a distância entre o objeto e a fonte de raios X (*Source-object distance* - SOD) e, a fonte e o detector (*Object-detector distance* - ODD). Alguns sistemas, como o Skyscan 1173, não permitem a aproximação do detector à fonte, outros, como o 1172 e o NanoTom, possibilitam esta aproximação, sendo chamados de sistemas de geometria flexível, como mostra a **Figura 2**. Esta disposição modifica tanto a resolução espacial, que está relacionada ao tamanho de pixel, quanto o SNR, por possibilitar uma perda significativa de fótons coletados por pixel do detector. Esta perda poderia ser compensada com o aumento do tempo de exposição.

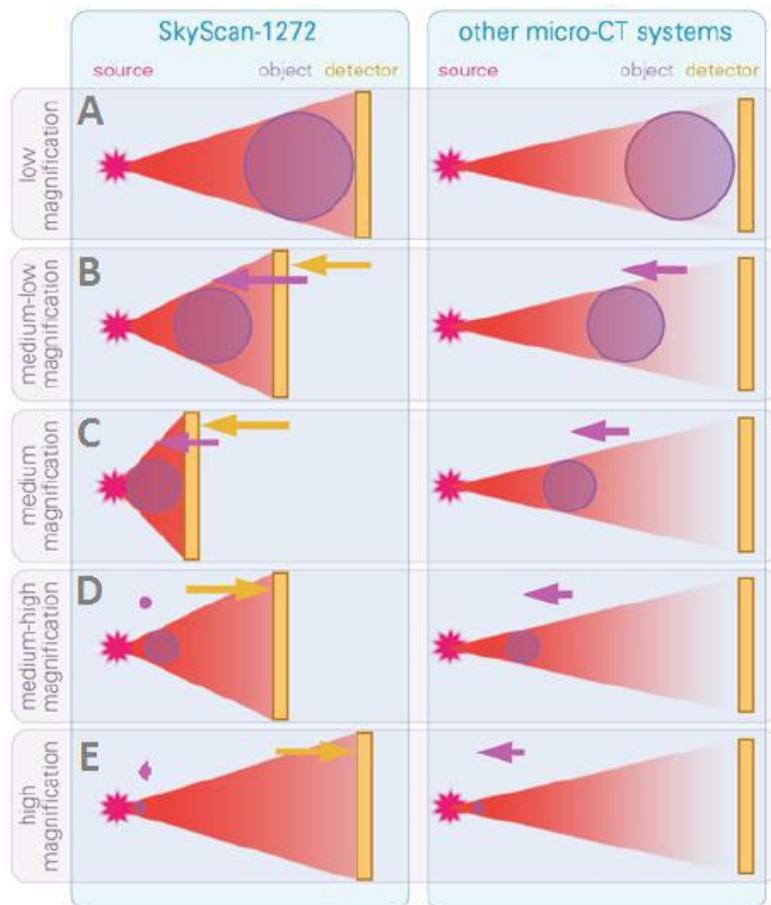


Figura 2. Sistema de geometria variável (esquerda) e sistema de geometria fixa (direita).

Juntamente com o tamanho do ponto focal, o SOD e o ODD são fatores importantes que determinam a nitidez das imagens de projeção. A falta de nitidez nas bordas da imagem causada por esses fatores é referida como "penumbra" e está diretamente ligada ao ângulo do cone. SOD maiores, em que se tem um ângulo menor, podem levar à imagens mais nítidas devido à redução do desfoque de ponto focal. Ao contrário, SOD mais curtas fornecem uma ampliação geométrica mais alta, ângulo maior e, conseqüentemente, maior borramento (PAUWELS, *et al.*, 2015).

A **Figura 3** apresenta um esquema didático da formação da penumbra geométrica ou borramento, inerentes a sistemas de feixe cônico.

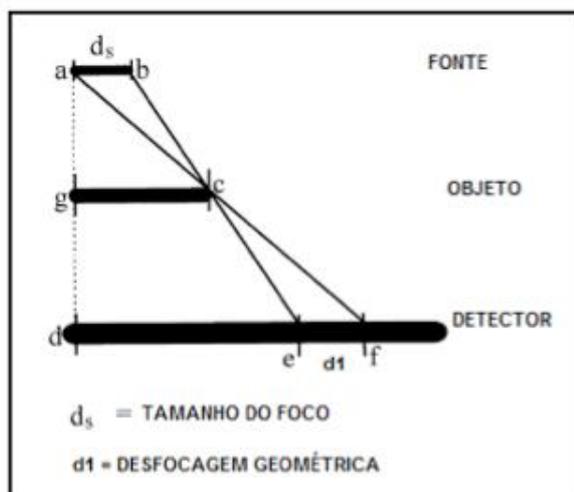


Figura 3. Ilustração do efeito do tamanho do foco na qualidade da imagem (OLIVEIRA, 2012).

Como visto na **Figura 2**, o tamanho de pixel mínimo é atingido com a amostra colocada o mais próximo possível da fonte, menor SOD, e longe do detector, maior ODD, para fornecer uma ampliação geométrica máxima. (CARL ZEISS MICROSCOPY GMBH, 2013). Entretanto, como a resolução é determinada primariamente pelo sistema de detecção e o feixe que, nesta metodologia, é cônico, o menor tamanho de penumbra ocorrerá em amostras de menor seção transversal e através do aumento da distância entre a amostra e a fonte de raios X, por ser relacionada ao ângulo do cone do feixe. Desta forma, como o "fator de distância" diz que a RE pode se degradar à medida que a SOD aumenta, deve-se obter medições de resolução espacial que serão relevantes para o estudo em múltiplas distâncias de trabalho, dentro de em uma faixa de distância apropriadas para dimensões de amostra (CARL ZEISS MICROSCOPY GMBH, 2013).

O tamanho do *pixel*, nos estudos que utilizaram microCT em endodontia sofreu mudanças desde os primeiros estudos. Os primeiros aparelhos permitiam um tamanho de *pixel* de 127 μm (NIELSEN *et al.*, 1995). Ao longo dos anos, com a melhora tecnológica, o tamanho do *pixel*, assim como o tempo de aquisição/reconstrução diminuíram e, em 1999, RHODES *et al.* (2000) já apresentavam imagens com resolução de 81 μm , seguido dos estudos de PETERS *et al.* (2001) e GEKELMAN *et al.* (2009) com 34 μm , SOMMA *et al.* (2009) 19,1 μm e PAQUÉ *et al.* (2010) 10 μm .

Outro ponto de fundamental importância para a resolução espacial é o intervalo de penumbra, que ocorre na transição entre diferentes graus de atenuação e cria um borramento na imagem, como visto na **Figura 3**. Este intervalo está intimamente

ligado ao diâmetro da medida do raio X na fonte e, quanto menor o diâmetro do tubo de raios-X, menor será a desfocagem geométrica e, portanto, melhor será a qualidade da imagem.

Para permitir uma alta resolução, o feixe de raios-X em microCT são emitidos de uma área muito pequena do catodo (chamada de ponto focal) e detectados por uma câmera de raios X retangular plana (Figura 2). Esta geometria que liga o ponto de origem ao campo de visão da câmera (*Field of view* - FOV), por mais que seja chamada de "feixe cônico" é, na verdade, uma pirâmide e, o caminho dos raios X da fonte para a câmera é inclinado em um ângulo chamado "ângulo do cone". Desta forma, é importante salientar que somente os pixels localizados em uma linha horizontal no centro do detector receberão fótons ortogonais. Essa linha é chamada de "eixo óptico" e é mostrada em vermelho na **Figura 4**. Esta informação é de extrema importância, interferindo na resolução espacial das partes superior e inferior da imagem, e está relacionada as maiores limitações desta metodologia.

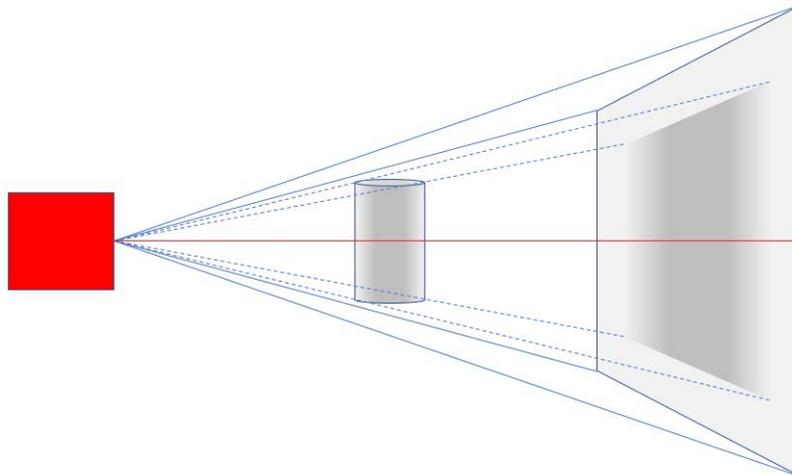


Figura 4. Geometria do feixe cônico usada em MicroCT: a geometria ortogonal existe apenas no eixo óptico, mostrado em vermelho.

A área efetiva do alvo, definida como ponto focal eletrônico, depende da orientação da superfície do anodo, que faz um ângulo com relação ao feixe de elétrons, existindo uma relação entre o tamanho do ponto focal ótico e o seno do ângulo do anodo (MUDRY *et.al.*, 2003). Dessa forma, uma menor angulação em relação ao feixe é benéfica para a qualidade de imagem. Porém, a potência do tubo de raios X limita a diminuição do ângulo, uma vez que feixes de elétrons com maior energia exigem uma área maior para dissipar o calor produzido. Esta área é um dos muitos fatores que definem a resolução espacial definitiva de um sistema, mas o impacto é altamente dependente do design ótico e da imagem do sistema (CARL ZEISS MICROSCOPY

GMBH, 2013).

O tamanho do ponto de origem é um dos determinantes da nitidez da imagem (PAUWELS *et al.*, 2015), e refere-se à resolução devido ao desfoque de imagem induzido pelo tamanho do ponto, referenciado como "mancha borrada" ou "borrão penumbral", que é proporcional ao tamanho do ponto de origem e à ampliação geométrica. Esse borrão de mancha pode limitar significativamente a resolução para sistemas baseados em ampliação geométrica, incluindo a MicroCT convencional. Uma fonte ideal de raios X seria aquela com tamanho focal pontual, uma vez que qualquer fonte de raios X extensa, por menor que seja seu diâmetro, gera uma penumbra geométrica na imagem de um objeto. O tamanho e a forma do foco contribuem para a determinação da qualidade da imagem resultante, sendo ideal obter o menor tamanho focal possível. Quanto menor o tamanho do foco, menor será a penumbra geométrica gerada, o que permite a obtenção de projeções mais acuradas.

Como resultado, os fabricantes convencionais de microCT e NanoCT concentraram-se no desenvolvimento do menor tamanho de ponto do sistema. Isso não deve ser usado como uma métrica comparativa quando a comparação inclui sistemas como os microscópios de raios-X que usam dois estágios de ampliação e não dependem apenas da ampliação geométrica. (CARL ZEISS MICROSCOPY GMBH, 2013). Como este intuito, os equipamentos de microCT denominados comerciais são desenvolvidos com tamanhos de focos em dimensões da ordem de micrômetros ou ainda algumas centenas de nanômetros (LANDIS & KEAVE, 2010). A vantagem de tamanha alta resolução é uma melhor identificação das pequenas estruturas, resultando em uma melhor exposição de pequenos istmos, comunicações intercanais, canais acessórios e múltiplos forames apicais relacionados à infecção endodôntica (VERMA & LOVE, 2011).

A influência da penumbra, relacionada ao tamanho focal, e do tamanho do pixel vai além de apenas contribuições individuais à limitação da resolução espacial. Quando se juntam, entende-se melhor os chamados "efeitos de volume parcial" que, se não forem devidamente explicados, podem levar a determinações errôneas de dimensões de recursos e frações de volume de componentes (KETCHAM & CARLSON, 2001).

Sabe-se que cada pixel em uma imagem CT representa as propriedades de atenuação de um volume de material específico. Se um objeto ou parte deste, um poro ou um canalículo do SCR, for menor do que um *pixel*, sua densidade será calculada como a média das informações do objeto restantes no espaço do *pixel*. Este fenômeno

é referido como “*Partial Volume Effect*” (efeito do volume parcial) ou “*Volume Averaging*” (nivelamento de volume) (KETCHAM & CARLSON, 2001; ROMANS, 2013).

Além disso, por causa das limitações de resolução inerentes da TC de raios X, todos os limites materiais são desfocados até certo ponto, e assim o material em qualquer um dos *voxels* pode afetar os valores de CT dos *voxels* circundantes (KETCHAM & CARLSON, 2001).

Uma vez que nenhum objeto menor que um *pixel* pode ser apresentado com precisão devido à média de volume, o tamanho do *pixel* afeta a resolução espacial. Desta forma, quando os *pixels* são menores, é menos provável que eles contenham diferentes objetos e densidades, portanto, diminuem a probabilidade do *Partial Volume Effect* (Efeito de volume parcial), melhorando a resolução espacial. Conseqüentemente, nenhum objeto menor do que um *pixel* pode ser acuradamente exibido devido à média de volume (e o tamanho da matriz influencia o tamanho do *pixel*), segue-se que o tamanho da matriz afeta a resolução espacial (ROMANS, 2013).

Da mesma forma, quanto maior o *pixel*, mais provável que diferentes objetos estejam contidos dentro de um mesmo *pixel*, ou seja, que esse volume seja composto de um número de substâncias diferentes, então o valor CT resultante representa uma média de suas propriedades e, o valor deste (grau de cinza atribuído), uma média dos coeficientes de atenuação dos volumes, resultando em uma imagem menos precisa (ROMANS, 2013).

Embora esses fatores possam tornar os dados de CT mais problemáticos para interpretar quantitativamente, eles também representam uma oportunidade para extrair dados inesperadamente em escala fina das imagens de TC. Um exemplo são as fraturas em CBCT, que se tornam visíveis, apesar de serem consideravelmente mais finas que a largura dos pixels, devido aos efeitos de volume parciais (KETCHAM & CARLSON, 2001).

Basicamente, utilizam-se duas diferentes formas para a obtenção do valor da resolução espacial dos sistemas de microCT: através da avaliação por pares de linha por milímetro (lp/mm^{-1}) e pela definição da "Função de Transferência de Modulação" (*Modulation Transfer Function* - MTF).

Tradicionalmente, a resolução espacial foi avaliada em pares de linhas por milímetro (lp/mm^{-1}). A imagem radiográfica de um *phantom* contendo linhas finas altamente absorventes (*leads*) em distâncias definidas é usada para avaliar visualmente a menor distância em que o sistema de imagem é capaz de resolver a linha como entidades separadas. Em um sistema de geração de imagens discretas usando uma

matriz de pixels, uma representação de um par de linhas requer um mínimo de dois *pixels/voxels*, um que representa a linha principal e outro espaço entre duas linhas. Esse sistema ideal não é a realidade, em um sistema baseado em *pixel* do mundo real, uma borda nítida é distribuída em diferentes pixels vizinhos. Esse é um dos efeitos que explica toda a resolução do sistema de imagens. (BRULLMANN & SCHULZE, 2015)

A capacidade de discriminar as linhas em relação ao fundo também é uma função do contraste entre a linha e o fundo. A Função de Transferência de Modulação (*Modulation Transfer Function - MTF*) representa a métrica fundamental para a medição objetiva da resolução espacial em modalidades de tomografia baseada em raios X. Assim, ela fornece uma medida mais precisa do que a avaliação visual simples e também foi sugerida para aplicação na CBCT (EUROPEAN STANDARD, 2004; BRULLMANN & SCHULZE, 2015). Basicamente, a resolução espacial do sistema de imagem caracterizada em termos da função de transferência de modulação (MTF), descreve a capacidade do sistema de transferir sinal de uma dada frequência espacial. Em outras palavras, a capacidade de resolver detalhes está intimamente ligada ao MTF (PAUWELS *et al.*, 2015).

TELES (2016), para a obtenção da resolução espacial de dois diferentes sistemas de microCT, utilizou o método de borda inclinada (*Slanted edge method*) (JUDY, 1976) para avaliar a (MTF). Com este método, o autor utilizou uma placa de Tungstênio quadrada de bordas finas onde traçou um perfil de densidade na borda, na imagem radiográfica (EN14784-1, 2005), utilizando a eq. 2 abaixo para obter a resolução espacial:

$$RE = \frac{1}{2 \cdot MTF_{20\%}}, \quad (2)$$

em que RE é a resolução espacial obtida e $MTF_{20\%}$ é o valor da função de transferência de modulação que corresponde a 20% do valor máximo de níveis de cinza da linha de perfil de densidade traçada

De acordo com diferentes tamanhos de pixel empregados na aquisição da imagem, avaliou-se a resolução espacial fornecida pelo equipamento a partir da MTF, nas diferentes matrizes de pixels de detecção.

TELES (2016), mostrou que as razões entre a RE e o tamanho de pixel se tornaram maiores quando se trabalhou com as maiores matrizes do detector, em especial na matriz de 2240x2240 pixels (**Figura 5**). Esta constatação corrobora com a

afirmação de que a resolução espacial de estruturas não depende apenas do tamanho de pixel do detector, sendo fortemente influenciada pela desfocagem dos pixels devido às dimensões do ponto focal do tubo de raios X, sendo que os efeitos desta limitação do sistema se tornam mais pronunciadas em estruturas muito próximas comprometendo a detectabilidade do sistema (ENGELHARDT e BAUMANN, 2006).

Vale salientar que os experimentos conduzidos por TELES (2016) ocorreram no mesmo aparelho (Skyscan 1173 - Laboratório de Instrumentação Nuclear - UFRJ) e na mesma época em que os experimentos da presente tese foram realizados. Foi possível estimar que a RE máxima deste sistema, naquela época, foi igual a 13 μ m (TELES, 2016).

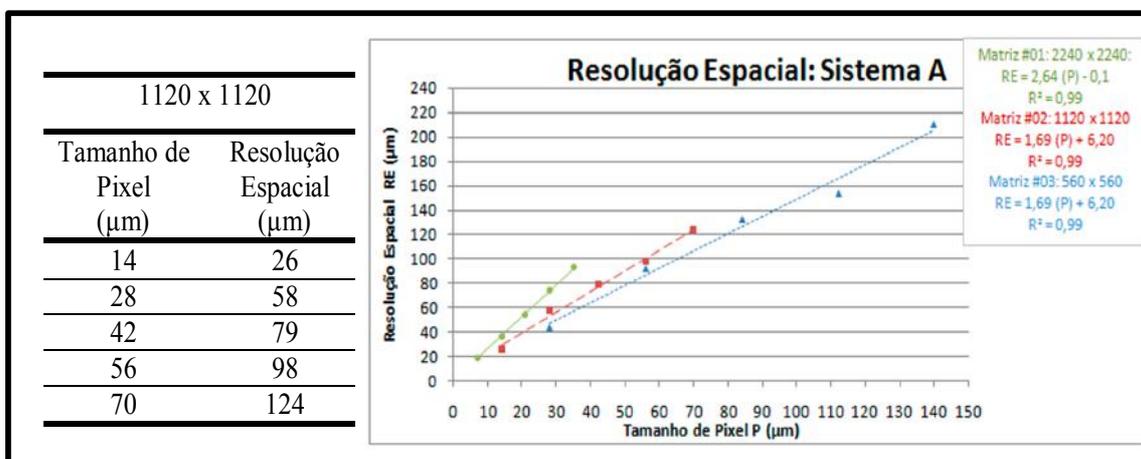


Figura 5. `A esquerda, tabela referente a matriz 1120x1120 relacionando o tamanho do pixel com a resolução espacial. `A direita, os resultados em forma de gráfico da RE em função do tamanho de pixel empregado na aquisição de imagem de microCT do sistema Skyscan 1173, que por sua vez se modifica devido à magnificação utilizada (TELES, 2016).

2.4.2. Resolução em Contraste

Quando um feixe de raios-X interage com um objeto (substância absorvente) vários processos podem ocorrer mas, basicamente, parte do feixe é absorvida no objeto e parte é transmitida. Dentre todos os processos que podem ocorrer no objeto, os mais importantes para CBCT e microCT em Endodontia são o efeito fotoelétrico e o espalhamento Compton. A intenção desta tese não é se aprofundar nos tipos de interação e suas características, desta forma, focar-se-á nas consequências práticas de interesse para a sua aplicação.

Sabe-se que quando fótons de raios X interagem com um material, a absorção ou não de parte destes fótons, o quanto de fótons interage com o material depende de seu coeficiente de atenuação. O coeficiente de atenuação de um material caracteriza a probabilidade com que ele pode interagir com o fóton de certa característica. Um grande coeficiente de atenuação significa, na prática, que a radiação será rapidamente absorvida à medida que ela passa pelo meio, não havendo (ou havendo poucos) fótons que a atravessaram. Um coeficiente de atenuação baixo significa que a onda é relativamente absorvida pelo material, sendo calculado seguindo a lei de Beer-Lambert, como apresentado na Eq. 3 (BUZUG, 2008).

$$I = I_0 e^{-\mu \eta}, \quad (3)$$

Na equação, I é a intensidade do feixe de fótons que atravessou o material, I_0 é a intensidade do feixe incidente, η a espessura do material atravessado pelo feixe e μ o coeficiente de atenuação linear.

Pode-se notar, então, que os valores do coeficiente de atenuação são dependentes, principalmente, da densidade e do número atômico efetivo do material e da energia do feixe de raios X. Assim sendo, há influência da tensão aplicada na produção da imagem e, conseqüentemente, com o aumento da tensão um maior número de fótons chega à área sensível do detector, afetando o contraste observado. É visto também que, de acordo com o coeficiente de atenuação de cada material, uma energia ótima é observada, onde o sinal não é tão intenso para atravessar facilmente todo o material, a ponto de mascarar a diferença de espessuras nem tão fraco a ponto de ser absorvido pelo material.

Contudo, a lei de Beer-Lambert é válida apenas para feixes monocromáticos, ou seja, feixes com fótons com a mesma energia. Como discutido anteriormente, o feixe de raios X produzido por tubos utilizados em sistemas de microCT convencionais é policromático. Para este tipo de feixe, o coeficiente de atenuação μ varia com a energia do feixe. De modo geral, o coeficiente de atenuação decresce com a energia do feixe, isto é, enquanto feixes de maior energia, chamados de feixe de raios X duro, têm maior poder de penetração, os feixes moles, aqueles de menor energia, são absorvidos pelo material (WILDENSCHILD e SHEPPARD, 2013).

O espectro de energia gerado é geralmente descrito em termos do pico de energia de raios-X (kV), mas, na verdade, consiste em um *continuum* em que o nível com intensidade máxima é tipicamente menor que a metade do pico (KETCHAM & CARLSON, 2001) devido à forma de produção dos raios X, que nos aparelhos

estudados na presente tese, são formados por freamento ou *Bremsstrahlung*. Este espectro depende fundamentalmente da energia da partícula incidente, a voltagem aplicada a fonte do equipamento. Como o processo depende da energia e da intensidade de interação da partícula incidente com o núcleo e de seu ângulo de "saída", a energia da radiação produzida pode variar de zero a um valor máximo, sendo contínuo seu espectro em energia. Desta forma, o espectro emitido por uma fonte de raios X produzido por freamento, o feixe é policromático, contendo vários comprimentos de onda em uma distribuição mais ou menos assimétrica. (SCHULZE *et al.*, 2011)

Na produção de raios X de freamento são produzidos também raios X característicos referentes ao material com o qual a radiação está interagindo. Esses raios X característicos somam-se ao espectro de raios X e aparecem com picos destacados nesse espectro. Se a energia do fóton incidente cair abaixo da energia de ligação de uma determinada camada, um elétron dessa camada não poderá ser ejetado. Portanto, um gráfico de seção fotoelétrica versus energia de fótons exibe as características "*absorption edges*" (bordas de absorção). O efeito fotoelétrico é mais provável quando a energia do fóton incidente é ligeiramente maior que a energia de ligação. Depois que o elétron é ejetado, os átomos irradiados podem emitir raios X, resultantes da decomposição dos estados excitados. Cada elemento emite um conjunto característico de raios-X.

O espectro total "efetivo" é determinado por um número de fatores além da entrada de energia da própria fonte de raios-X, incluindo a autofiltragem tanto por absorção de fótons gerados abaixo da superfície de um alvo espesso e pela passagem através do porto de saída do tubo; outra filtragem de feixe introduzida para remover seletivamente os raios X de baixa energia; feixe de endurecimento no objeto sendo digitalizado; e a eficiência relativa dos detectores para diferentes energias. Como discutido abaixo, mudanças no espectro de raios X causadas pela passagem através de um objeto podem levar a uma variedade de artefatos de varredura, a menos que sejam feitos esforços para compensá-los (KETCHAM & CARLSON, 2001).

Dito isso, a resolução de densidade ou contraste de uma imagem radiográfica é definido pela capacidade de distinguir tecidos ou materiais de diferentes densidades. Refere-se à diferença entre claro e escuro na imagem do objeto em comparação com o fundo e consiste na diferença de fluência de fótons entre duas regiões adjacentes de uma imagem, em tons de cinza que distinguem os objetos e, quanto maior essa diferença, mais fácil é a separação destes. Alcançar o melhor contraste, significa ter a melhor diferenciação entre os coeficientes de atenuação, e isto se dá com um maior espaçamento entre os diferentes tons de cinza, no histograma (RUSS & NEAL, 2017).

Para fins práticos, a atenuação do fóton, ou seja, o seu coeficiente de atenuação de massa, está intimamente ligado à energia do feixe de raios X, sendo um dos mais importantes fatores que controlam o contraste radiográfico. O valor do coeficiente de atenuação normalmente diminui de acordo com o aumento da energia do raio, havendo aumento do contraste em energias menores. Contudo, além da energia do feixe e o coeficiente de atenuação, existe a influência de outros fatores, como a faixa dinâmica detectável de valores de exposição do detector, alguns fatores de exposição em si e o desfoque de bits da imagem reconstruída (SCHULZE *et al.*, 2011; PAUWELS *et al.*, 2015).

Um fator que influencia sobremaneira o contraste, principalmente em CBCT ou aparelhos de microCT de baixa potência, são os chamados fótons espalhamento. Esses fótons são causados por serem difratados do caminho original após a interação com o objeto. Esta parcela adicional de raios-X dispersos atingem o detector e resulta em intensidades medidas aumentadas, uma vez que as intensidades escassas simplesmente aumentam a intensidade primária (I_0). Essas intensidades superestimadas produzem intensidades superestimadas em cada voxel ao longo do caminho; isto corresponde a uma subestimação da absorção. Chamado de "Scatter", é bem conhecido por reduzir ainda mais o contraste dos tecidos moles (SCHULZE *et al.*, 2011).

Diferentes máquinas com características diferentes em termos de tensão de raios X, corrente e resolução espacial estão disponíveis no mercado. Uma vez que não é possível que um único sistema de microCT cubra todas as faixas de resoluções espaciais entre 100 μm e 1 μm , a escolha da resolução espacial é uma questão fundamental para obter uma imagem satisfatória de uma dada estrutura (PEYRIN *et al.*, 2014), porém, uma das limitações da técnica de microCT é a incapacidade do sistema em caracterizar com precisão objetos compostos de diferentes materiais, quando os mesmos apresentam certas propriedades que, ao interagirem com um feixe de raios X, em determinada energia, apresentam comportamento semelhantes. Para estes casos, pesquisadores utilizam a microtomografia computadorizada por Dupla-Energia (microCT-DE) ou radiação synchrotron. Esta limitação se mostra presente principalmente ao se utilizar feixes extremos, ou seja, muito ou muito pouco energéticos.

2.4.3. Ruído

O termo é definido, de forma mais simples, como qualquer sinal indesejado que pode degradar a qualidade da imagem, a incerteza associada ao registro do sinal. É uma característica inerente ao sistema de aquisição de imagem de microCT por

transmissão de raios X. Refere-se então às flutuações aleatórias nos valores dos pixels advindas do processo de aquisição gerando histogramas com picos em formato de gaussiana. Embora o ruído não seja tratado como um artefato, é um fator de deterioração da imagem (RUSS & NEAL, 2017).

As imagens adquiridas por sensores de radiação, em geral, apresentam ruídos advindos de diversas fontes e influenciam a qualidade de imagens obtidas. Dentre estas podemos citar:

- Ruído Eletrônico: Os ruídos eletrônicos estão presentes durante todo o processo, porém ocorrem em maior intensidade na leitura do sinal nos sensores. Mesmo sendo considerado significativo para o desempenho de um sistema, podem ser reduzidos com taxas apropriadas de leitura de informação pelo sensor e sistemas eletrônicos adequados (YOUNG et al., 1995).
- Ruído devido aos fótons: A produção de fótons é regida por leis da física quântica, de natureza estatística, conseqüentemente, observações consecutivas e independentes com mesmo intervalo de tempo, não apresentarão o mesmo número de fótons medidos. Este tipo de ruído é intrínseco ao sistema e, ainda que todas as outras fontes de ruído fossem eliminadas, estas flutuações não permitiriam que o ruído do sistema fosse nulo (YOUNG et al., 1995).
- Ruído Térmico: Também de caráter aleatório, é proveniente dos elétrons livres que surgem devido à energia térmica e que podem ser absorvidos como se fossem fótons (ou fotoelétrons). Refrigerando o sistema, pode-se conseguir uma significativa redução deste ruído (YOUNG et al., 1995).
- Ruídos de quantização: Este tipo de ruído ocorre durante o processo de conversão do sinal de analógico para digital, sendo inerente ao processo de quantização da amplitude do sinal na formação da imagem. Este tipo de ruído é independente da intensidade do sinal quando a quantização ocorre em 16 ou mais níveis (sinais de 4 bits ou valores superiores) e pode ser considerado desprezível para sistemas de mais de 8 bits (YOUNG et al., 1995).
- Ruído de amplificação: Relacionado à cadeia de pré-amplificadores e amplificadores acoplados aos detectores devido às flutuações aleatórias de corrente elétrica e necessárias, principalmente, para os sinais valores muito baixos de energia, uma vez que esses sinais precisam de uma maior cadeia de amplificação (CESAREO, 2000).

A forma de se mensurar o quanto a imagem é influenciada pela presença destes sinais indesejados é feita comparando o nível de ruído com a intensidade de sinal através do cálculo da relação sinal-ruído (SNR). Quanto maior o valor desta razão, melhor a qualidade da imagem, ou seja, uma imagem gravada a partir de uma grande quantidade de fótons é considerada mais precisa e pouco ruidosa, buscando-se assim uma alta SNR sem aumentar em demasiado o custo laboral (HASEGAWA, 1991).

Com o intuito de se melhorar a SNR, pode-se aumentar o tempo de exposição, aumentando o fluxo de fótons, ou variar (aumentar) a corrente (μA). Desta forma, à medida que o número de fótons aumenta, o grau da incerteza com a qual o sinal é registrado é diminuído, isto é, o ruído é diminuído. Esta técnica de medição será detalhada na seção de materiais e métodos da presente tese.

2.5 A Visão Humana

Entender a visão humana e suas limitações se faz necessário visto que muito dos algoritmos utilizados no processamento de imagens são de alguma forma baseados neste entendimento: no que as pessoas veem, no que acham que viram e no que elas não viram. Ver não é sinônimo de enxergar, como diria Sherlock Holmes (RUSS & NEAL, 2017).

Independentemente de ser bom ou ruim, é por esta maneira que os cientistas recebem informações sobre experimentos em microCT e radiologistas emitem seus laudos. O mecanismo de interpretação de imagens e reconhecimento de padrões desenvolvido em milhares de anos pelos humanos, e com grande responsabilidade na perpetuação da espécie, não necessariamente funcionam bem no campo científico. Desta forma, entender os diferentes tipos de informações que podem ser extraídas, o papel da expectativa e o viés gerado pela nossa visão é necessário para o cientista confiar em seus resultados (RUSS & NEAL, 2017).

Informações de suporte são necessárias para criar um contexto de entendimento e foco no que se deve ser estudado, existindo poucos motivos para se esperar que duas pessoas extraiam a mesma informação de uma figura ou dataset, visto que partem de conhecimentos, cultura e experiências diferentes. Estudos sugerem que pessoas ocidentais fixam a atenção em objetos do primeiro plano, coloridos ou brilhosos; entretanto, asiáticos prestam maior atenção no todo, em detalhes do fundo, notando a presença do objeto mas não estudando ou memorizando informações do objeto (RUSS & NEAL, 2017).

O olho humano não mede os graus de cinza, mas sim compara sua diferença, seu contraste. Em geral, 64 graus de cinza são considerados o máximo discernível pelo

olho humano, apesar disso, sistemas de tomografia trabalham normalmente com 256 níveis de cinza (OGE & HUGO, 1999). A resolução de um olho humano sem a ajuda de lentes é em torno de 100 micrometros quando o contraste é de 100% (entre linhas brancas e pretas). O processo neural não é linear, logo, linhas pretas em fundo branco são melhor resolvidas do que o contrário, onde há a sensação da definição da borda ser menos abrupta. Quando as linhas são largas, menos contraste é necessário entre elas, como pode ser visto na **figura 6**. Aumentar o zoom de uma imagem melhora a visualização de detalhes pequenos em dimensão, porem torna mais difícil a percepção de contraste, podendo diminuir a habilidade de visualização de detalhes. Na maior parte de nossas experiências detectamos somente o que é esperado por nós e, conseqüentemente, nosso conhecimento prévio influencia nesta percepção (RUSS & NEAL, 2017).

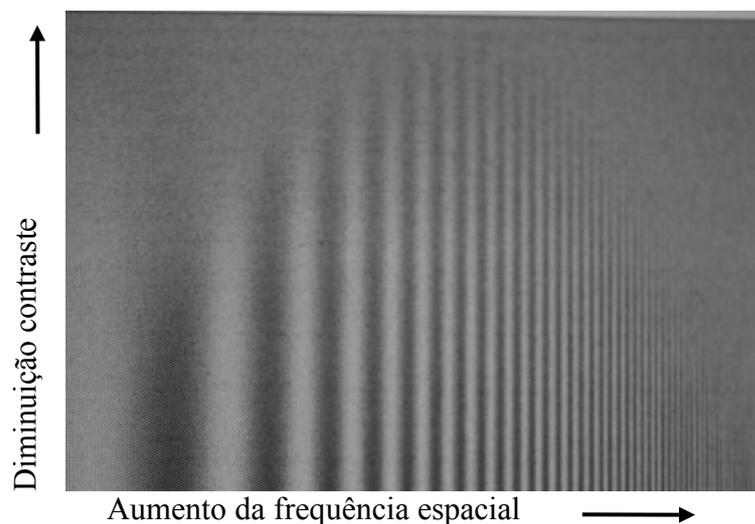


Figura 6. Ilustração da MTF da visão humana mostrando que a habilidade de resolver detalhes em baixo contraste ocorre numa frequência espacial média (RUSS & NEAL, 2017).

2.6 Reconstrução

A tarefa de reconstrução 3D, onde se atribui valores de cinza aos *pixels*, tem o intuito de recuperar a função de densidade (μ) para o maior número possível de pontos do objeto usando todo o conjunto de projeções. Isto se dá usando os dados brutos obtidos durante o escaneamento, ou a “*raw data*”, sendo basicamente um conjunto de radiografias bidimensionais realizadas sob diferentes ângulos. Estas projeções com as informações de medidas de atenuação não fornecem diretamente a imagem, mas um

chamado sinograma, onde será aplicado o algoritmo de reconstrução para formação do volume tridimensional (SCHULZE *et al.*, 2011).

Em 1984, Lee Feldkamp, engenheiro do fabricante de automóveis Ford, publicou seu agora famoso algoritmo para reconstrução de tomografias em geometria de feixe cônico. Baseando-se na teoria do trabalho de Radon, o qual relata que a reprodução bi ou tridimensional de um objeto é realizada a partir da repetição em série de todas as suas projeções, desenvolveu esse algoritmo em que envolve a interpolação de "caminhos de câmera" de origem inclinados, para reconstruções de seções transversais planas paralelas. A maior parte dos artigos publicados utilizando microCT menciona "Feldkamp" na seção de métodos.

Este algoritmo de reconstrução tomográfica, chamado *algoritmo Feldkamp-David-Kress* (FDK) utiliza a Projeção por Retroprojeção (FBP). Esta retroprojeção filtrada, na qual os dados são primeiro filtrados e cada vista é sobreposta sucessivamente sobre uma grade quadrada, em um ângulo correspondente ao seu ângulo de aquisição (KETCHAM *et al.*, 2001), conta com uma relação matemática exata que relaciona a imagem ao seu sinograma para obter a imagem da TC (PEYRIN *et al.*, 2014).

Feldkamp nunca afirmou que seu algoritmo era perfeito, na verdade, ele chamou de método de feixe cônico "prático". Este método não é exato como no caso 2D e pode produzir os chamados artefatos de feixe cônico. Os erros aumentam e estão relacionados com a divergência do feixe cônico, mas permanecem baixos para ângulos de cone menores que 10 °, daí, mais uma vez, a influência do tamanho da área focal da fonte e são mais importantes nas fatias superior e inferior, que às vezes são excluídas da reconstrução. (PEYRIN *et al.*, 2014) Ou seja, a fraqueza ou "calcanhar de Aquiles", ocorre basicamente nas superfícies horizontais paralelas ao eixo óptico da linha média, onde são reconstruídas incorretamente pois os dados de projeção inclinados não possuem informações suficientes para uma reconstrução correta e única.

Desta forma, na tecnologia de TC em que se utiliza o "feixe cônico", todos os algoritmos são computados e somente após toda aquisição são reformatados em imagens e os valores das imagens digitais não são contínuos, mas sim, quantidades discretas e apresentam-se em uma faixa determinada pelo sistema de computador (VANNIER, 2003; SCHULZE *et al.*, 2011). Na maioria dos scanners industriais, a escala mais comum usada até agora é de 16 bits, na qual 65536 valores são possíveis e correspondem à escala de cinza nos arquivos de imagem criados ou exportados pelos sistemas, normalmente em ".tiff". Embora os valores de TC devam ser mapeados

linearmente ao coeficiente de atenuação efetivo do material em cada voxel, a correspondência absoluta é arbitrária (KETCHAM *et al.*, 2001).

Ao final do processo de reconstrução, as imagens digitais de saída são apresentadas em modo discreto e finito, isto quer dizer que cada *pixel* (elemento fundamental da imagem digital) terá um valor inteiro dentro de uma determinada escala de bits. Neste trabalho estudaremos imagens em escala de 8 bits, ou 256 níveis de cinza, sendo o branco igual a 0 (zero) e o preto igual a 255. Os valores atribuídos são, normalmente, trabalhados com a ajuda de um histograma.

O histograma, também conhecido como distribuição de frequências, é a representação gráfica em colunas de um conjunto de dados tabulado e dividido em classes, que no caso da tomografia, são uniformes e relacionados aos números de cinza por bits. Como uma imagem típica em 8 bits possui a escala de cinza representada em 2^8 ou 256 valores de cinza entre o branco, que corresponde ao 0 (zero) e o preto (255) (RUSS & NEAL, 2017). Desta forma, é um mapeamento cumulativo, com a altura da coluna representando a quantidade ou a frequência absoluta com que o valor da classe ocorre no conjunto de dados e, a base, representando cada classe.

Em processamento de imagens, trabalha-se sempre com os tons de cinza, sendo o histograma a contagem de pixels de cada nível de cinza da imagem ou de uma região específica, ignorando a posição do pixel e o valor dos pixels vizinhos. Representam dados digitais, também chamados de discretos possivelmente a mais útil em processamento digital de imagens. Assim sendo, a distribuição de intensidades é representada por colunas discretas, que não podem ser divididas ou "quebradas", correspondentes a números inteiros.

Picos no histograma podem identificar várias regiões homogêneas, sendo esperado que estes correspondam às estruturas e objetos da imagem. Desta forma, *thresholding* devem ser definidos entre os picos para a distinção do objeto do *background* (RUSS & NEAL, 2017).

O histograma de uma imagem é simplesmente um conjunto de números indicando o percentual de pixels naquela imagem que apresentam um determinado nível de cinza. Estes valores são normalmente representados por um gráfico de barras que fornece para cada nível de cinza o número (ou o percentual) de pixels correspondentes na imagem. Através da visualização do histograma de uma imagem obtemos uma indicação de sua qualidade quanto ao nível de contraste e quanto ao seu brilho médio (se a imagem é predominantemente clara ou escura) (OGÊ & HUGO, 1999).

2.7 Softwares

Geralmente, os sistemas de radiografia computadorizada fornecem programas próprios de processamento de imagem e, neste sentido, utilizamos os *softwares* desenvolvidos pela fabricante de dois dos três tomógrafos utilizados neste trabalho: Bruker-microCT (Leuven, Bélgica). Durante o processo de reconstrução, alguns autores descrevem os passos abaixo como pré-processamento de imagens, e têm como finalidade melhoria de informação visual para a interpretação humana e o processamento de dados para percepção automática (GONZALEZ & WOODS, 2000).

O *software* utilizado para reconstrução de todos os *datasets* desta tese foi o NRecon software v. 1.7.3.1 (Bruker-microCT, Bruker Co., Bélgica) no qual os valores para os diferentes parâmetros de reconstrução como: *smoothing*, *ring artefact* e *beam-hardening correction*, assim como o a faixa de densidade em contraste, são automaticamente gerados, porém, como discutido em nota técnica pela empresa desenvolvedora do software, a análise e ajuste dos parâmetros deve ser realizado. Desta forma, utilizando a ferramenta de “*fine tuning*” e “*preview*”, três slices foram usados como referência para determinação da compensação de desalinhamento (*misalignment compensation*): um em terço apical, outro terço médio e o último em coroa. Um valor apropriado foi determinado para cada equipamento, baseado na experiência do operador, e buscando-se o mesmo nível de borramento entre as imagens dos diferentes equipamentos (SKYSCAN, 2016). As definições destes parâmetros podem ser vistas abaixo:

- *Smoothing*: Também chamado de Suavização, atua reduzindo ruídos nas reconstruções da imagem, porém, se usado em excesso pode causar borramento na imagem.
- *Misalignment compensation*: O desalinhamento é um artefato que ocorre devido à má fixação e movimentação da amostra no sistema. Este tipo de artefato gera imagem semelhante a um borramento ou sombra. Para a redução do ruído nas reconstruções da imagem, um valor apropriado foi determinado para cada equipamento, por tentativa e erro, baseado na experiência do operador, e buscando-se a melhor definição de bordas na imagem reconstruída (SKYSCAN, 2016).
- *Ring artefact reduction*: Esse artefato geralmente ocorre devido à presença de pixels com baixa eficiência ou “mortos” no detector, sendo visíveis como anéis concêntricos centrados em torno da localização do eixo de rotação. Eles são mais proeminentes quando a mídia homogênea é visualizada. Aparentemente, eles são causados por defeitos ou elementos detectores não calibrados

(SCHULZE *et al.*, 2011). Parâmetros como *update flat field* e *random movement* foram utilizados na aquisição das imagens, não gerando grande artefatos em anel na imagem final, mesmo assim, um valor apropriado foi determinado para cada equipamento, baseado na experiência do operador, e buscando-se o menor nível de influência destes artefatos na imagem reconstruída (SKYSCAN, 2016).

- *Beam-hardening correction*: Como dito anteriormente, os equipamentos utilizados nesta tese trabalham com feixe policromático de energia e, estes interagem de forma diferente com a amostra pois um fóton atravessando o centro de um objeto interagirá com mais materiais do que os fótons que atravessam a borda e, portanto, esses chegam aos detectores mais energéticos, fazendo os objetos sejam reconstruídos artificialmente mais densos nas bordas (MACHADO, 2015). Um filtro de alumínio de 1mm de espessura foi utilizado na aquisição para a diminuição deste e, durante a reconstrução, um valor apropriado foi determinado para cada equipamento. Este valor foi determinado com a ajuda de uma linha de perfil feita sobre a imagem reconstruída e, baseado na experiência do operador, buscou-se o perfil do gráfico gerado entre as imagens dos diferentes equipamentos (SKYSCAN, 2016).

Dos parâmetros listados acima, a correção de *beam-hardening*, *ring artefact correction* e o *smoothing* foram determinados e mantidos iguais para todos os *datasets* do mesmo equipamento e energia, com o intuito de não influenciar a distribuição de graus de cinza entre os materiais. A correção de pós-alinhamento é uma exceção, sendo otimizada a cada escaneamento. Em todos os casos, os valores se enquadraram entre os da nota técnica para filtro de alumínio de 1mm: *Smoothing (1-3)*; *Beam-hardening correction (35-50)*; e, *ring artefact reduction (5-11)* (BRUKER, 2018).

Após cada “*preview*” gerado utilizando diferentes configurações, na aba “*Output*” tem-se um histograma correspondente ao coeficiente de atenuação ou à densidade de todos os pixels da seção transversal reconstruída. Nesta tese, para a determinação da janela de cinza, foi utilizado o histograma em função logarítmica por prover imagem mais fácil de manusear. Idealmente, neste pode-se visualizar a distribuição das estruturas mais claramente. Nesta janela, determina-se, através de dois números, os limites de contraste, sendo o menor número correspondendo ao ar definido como 0 (zero) e o maior, correspondendo à atenuação máxima, de 255. Esta determinação é de extrema importância, visto que todas as densidades dos diferentes objetos serão divididas entre estes valores e, sendo esta janela sobredimensionada, onde diferentes densidades se apresentarão sobre o mesmo nível de cinza, ou subdimensionada, onde certas

densidades serão excluídas na divisão, apresentando os valores extremos (neste caso 0 ou 255), mesmo sendo mais densas que o ar ou menos densas que o material mais denso, e não serão visualizadas na imagem final.

Esta determinação de valores influenciará diretamente o pós-processamento das imagens, isto é, o *output* após filtros e a determinação do *thresholding*. Como estamos trabalhando com diferentes equipamentos e energias, devemos padronizar a determinação destes valores e, para isto, utilizamos a técnica apresentada pela nota técnica expedida pela Bruker (BRUKER, 2018) onde o menor nível deve ser definido a zero e o maior, de 10 a 20% além do máximo valor de atenuação do histograma. Com o limite de contraste a zero, relaciona-se o valor do ambiente, próximo ao primeiro pico, ao ar. Esta determinação é uma forma de calibração fundamental para a análise de microCT, visto que se trata de uma metodologia que se baseia em medidas quantitativas de densidade.

Após a reconstrução, o objeto será visualizado através de suas seções transversais, que são imagens secundárias sintetizadas a partir do conjunto de projeções. É importante entender a relação geométrica entre as projeções e as seções transversais reconstruídas, sendo cada uma seção transversal correspondente a uma linha horizontal de pixels, na mesma altura, em todas as projeções. Porém, a reconstrução desta seção transversal normalmente requer mais do que somente esta linha de pixels, dependendo da posição da projeção e excluindo o eixo óptico no centro da projeção, considerando algumas linhas anteriores e posteriores, pelo motivo de o feixe ter natureza cônica. Com base nestas projeções, o volume do objeto é discretizado em relação ao nível de atenuação em graus de cinza, recebendo assim um valor na escala de bits e sua posição espacial (x,y,z).

2.8 Filtros

Após a reconstrução, o objetivo final é segmentar (separar) o volume de interesse a ser estudado das outras estruturas presentes na amostra. Para isto, é importante uma boa definição da borda do objeto, porém, a qualidade da imagem final pode não necessariamente estar pronta para a direta definição deste limiar, sendo necessária uma melhora nos parâmetros de qualidade de imagem. Desta forma, não é incomum a necessidade de aperfeiçoamento da imagem para esta segmentação e, entre as opções de processamento de imagens, a filtragem normalmente é a primeira etapa.

Os algoritmos de filtragem redefinem as imagens utilizando valores de cinza de cada *pixel* do *dataset* original e providenciando um novo valor a estes *pixels*

dependendo dos *pixels* vizinhos. No software CTAn, após a escolha do algoritmo de filtragem, deve-se definir valores de abrangência de três importantes parâmetros na utilização dos filtros: *Kernel*, *espaço 2D ou 3D* e *radius*. A definição literária de cada parâmetro pode ser vista a seguir:

- *Radius*: Define a quantidade de pixels vizinhos que terão influência (serão utilizados pelo algoritmo na definição do novo valor de cinza). Em geral, quanto maior o valor, maior o efeito visualizado (BRUKER, 2018).
- *Kernel*: Basicamente, é o formato da área de pixels vizinhos que serão utilizados pelo algoritmo no processo de filtragem, podendo ser quadrado ou redondo (BRUKER, 2018).
- *Espaço 2D ou 3D*: Quando se escolhe 2D, somente os pixels da mesma fatia serão levados em consideração, enquanto, no 3D, os pixels localizados em fatias anteriores e posteriores serão utilizados. Ou seja, a dimensão vertical será incluída no cálculo do valor, adicionando o eixo z aos eixos x e y, podendo ser considerado o cálculo sobre o *voxel*. Basicamente, a vantagem de cada um se dá na diminuição do tempo de computação quando se utiliza o 2D e na maior possibilidade de aumento na precisão quando se utiliza o 3D. (BRUKER, 2018)

Basicamente, os filtros se dividem em suavização ou aumento do nível de ruídos (SNR). Dentre as diversas opções de algoritmo no primeiro grupo (*Gaussian filter*, *Uniform filter* e *median filter*) utilizamos neste estudo o chamado “*Kuwahara*” e o “*anisotropic diffusion*” pois, além da suavização, seus algoritmos foram formulados para a preservação da borda ou a não alteração da transição entre diferentes fases (BRUKER, 2018).

O filtro *Unsharp Mask*, foi desenvolvido para aguçar as bordas. Do inglês “*Sharpening*”, pode ser traduzido para o português como “afiar”, “aperfeiçoar”, “aguçar”; desde forma, apesar do confuso nome que sugere o inverso, este filtro funciona da seguinte forma: é feita uma versão borrada do original; calcula-se a diferença entre o original e a imagem borrada; e, esta diferença é adicionada ao original, resultando no realce dos detalhes das regiões de borda. No software CTAn, o plug-in apresenta os seguintes parâmetros ajustáveis: *2D/3D*; *Radius*; *Amount*; and, *Thresholding*. Os dois primeiros já foram explicados anteriormente, já o “*amount*” significa a magnitude de contraste que será adicionada à imagem. É listado como percentagem e determina o quanto o preto irá escurecer e quanto o branco irá clarear (BRUKER, 2018). Já o *thresholding* restringe o uso do filtro a um mínimo de contraste entre o pixel e os adjacentes, prevenindo áreas uniformes de se tornarem ruidosas. Valores menores

aguçam mais por excluir menores áreas, valores altos excluem áreas de menor contraste. (BRUKER, 2018)

Somente o filtro “*anisotropic diffusion*” mantém o contraste original e o “*unsharp*” aumenta o contraste, outros filtros proporcionam um efeito negativo na visualização de pequenas estruturas (BRUKER, 2018). O “*anisotropic diffusion*” promete ótima suavização do ruído com a preservação da borda sem a perda de informação do processo de filtragem (BRUKER, 2018).

2.9 Segmentação

Todo estudo que utiliza a microCT, e se propõe a quantificar dados, necessariamente terá de segmentar o objeto a ser estudado e este processo é extremamente correlacionado com a qualidade da imagem final e a capacidade do sistema para definir a borda do objeto, ou seja, o limiar entre o objeto e o fundo. O dado de saída da segmentação é em forma de *pixels* com valores binários correspondentes ao preto e ao branco, o que corresponde tanto à fronteira de uma região como a todos os pontos dentro da mesma, sendo necessário entender e decidir qual será a representação dos dados, fronteira ou regiões completas.

Como visto anteriormente, por causa das limitações de resolução inerentes da TC de raios X, todos os limites materiais são desfocados até certo ponto, estando os três conceitos básicos na descrição das imagens (ruído, contraste e resolução espacial) intimamente ligados a este objetivo, não havendo hierarquia entre eles, portanto, nenhum é mais importante que o outro (RUSS & NEAL, 2017).

Como exemplo, alcançar o melhor contraste significa ter a melhor diferenciação entre os coeficientes de atenuação, o que significa um maior espaçamento no histograma entre os diferentes tons de cinza referentes a cada coeficiente. Além disso, os artefatos gerados ou a má escolha de parâmetros na aquisição podem dificultar a visualização e, principalmente, fazer com que o valor de cinza atribuído a um material em uma fatia seja discordante em diferentes partes do volume total (RUSS & NEAL, 2017).

Portanto, após a determinação dos parâmetros de aquisição e reconstrução adequados ao que se deseja estudar, um dos maiores desafios no processamento das imagens no microCT é a escolha do ponto de corte no momento da binarização (*thresholding*) das imagens. A definição dos elementos, objetos e estruturas, distinguindo-os do *background* é um passo importante e necessário antes de quantificá-los (RUSS & NEAL, 2017). Independentemente das características estruturais a serem quantificadas, a qualidade dos resultados depende fortemente da binarização da

imagem. Basicamente este passo se concentra na definição das bordas e resultará na extração do objeto de interesse através da análise dos níveis de cinza que o compõem e da escolha de um nível que os separa em grupos de tons de cinza (SALES, 2010; RUSS & NEAL, 2017).

Esta definição do limiar e, conseqüentemente, da borda do objeto, é de suma importância para a correta avaliação do objeto, tem total influência nos cálculos dos parâmetros morfológicos da amostra (HARA, 2002), sendo responsável pela subinstrumentação ou sobreinstrumentação dos parâmetros de quantificação, podendo acarretar uma caracterização de estruturas não reais.

Nas imagens endodônticas, este limiar estabelece limites entre a dentina e o SCR (poro), sendo importantes para a visualização correta das estruturas anatômicas, volume total, estudos de morfologia interna, quantificação das paredes não tocadas por instrumentos do tratamento endodôntico, transporte do canal e ação de produtos químicos.

Esta escolha de limiar pode ser realizada através da avaliação e experiência do operador (o método visual ou global); de algoritmos automáticos; ou, de métodos semiautomáticos que mesclam os dois métodos anteriores. Sendo de extrema importância para a escolha apropriada do algoritmo, se conhecer ao máximo o objeto a ser analisado, como foi o processo de aquisição e que tipos de material existem no *dataset* (PEYRIN *et al.*, 2014; RUSS & NEAL, 2017). Neste processo, independente do algoritmo utilizado, o histograma de níveis de cinza da imagem é muito utilizado como base (RUSS & NEAL, 2017).

Sabendo que o histograma é uma representação gráfica da distribuição de ocorrência dos níveis de cinza em uma imagem, a forma mais simples de limiarização consiste na bipartição deste histograma, convertendo os pixels cujo tom de cinza é maior ou igual a um certo valor de limiar (T) em brancos e os demais em pretos (OGÊ & HUGO, 1999).

A definição do *thresholding* de forma manual utilizando o histograma como guia e julgando a aparência visual da imagem é um método comum, mas os resultados são inconsistentes entre os operadores e entre diferentes espaços de tempo, sendo influenciados também pela expectativa e desejo do operador. Erros advindos da definição do *thresholding* por método manual provavelmente são os responsáveis pela maior parte dos problemas em análise de imagens que qualquer outra causa, sendo considerados incompatíveis com processamento automático (RUSS & NEAL, 2017).

É lícito imaginar a possibilidade de uso de técnicas de cálculo do valor ótimo de limiar com base nas propriedades estatísticas da imagem (OGÉ & HUGO, 1999). Desta forma, para se evitar tais erros e permitir a comparação e replicação de resultados, é desejável usar métodos automáticos baseados em algoritmos matemáticos, evitando ou minimizando, assim, o viés do operador (GAO *et al.*, 2009).

2.9.1 Método de Visual ou Global

O método visual é o mais usado ainda hoje nas mais diversas áreas de conhecimento. Neste método, um intervalo fixo de tons de cinza é definido para *pixels* que compõem o objeto de análise (branco) e, conseqüentemente, os *pixels* que apresentam valores de cinza fora desse intervalo são definidos como pixels de espaço ou fundo (preto). Porém, como explicado no item 2.5 da presente tese, a presença de variações nos valores de cinza do *background* pode impedir a detecção de objetos por limitações inerentes à visão humana, estando isto relacionado ao nível de ruído. Desta forma, deve-se ter em mente que grande parte dos estudos em Odontologia, e conseqüentemente seus dados e conhecimento gerado, são feitos sobre o global *thresholding*.

Utilizar o histograma para selecionar o *thresholding* normalmente o define em uma região entre os picos (em caso de dois objetos ou regiões além do *background*) ou logo anteriormente ao pico (em caso de somente um objeto, como no caso deste estudo, a dentina). A dificuldade e imprecisão são maiores nesta região, pois, normalmente, são regiões onde a curva está baixa, com poucos *pixels* contendo este valor de cinza e, desta forma, a contagem é pobre em termos estatísticos e o formato do histograma é mal definido. Conseqüentemente, o valor de *thresholding* será difícil de localizar e grandes mudanças no valor podem não ser percebidas pelo observador, visto que quando se trabalha com volumes tomográficos, o *dataset* pode conter entre algumas centenas a poucos milhares de fatias, o que representa mais uma razão para se utilizar métodos automatizados (RUSS & NEAL, 2017).

Provavelmente, o método mais simples é a identificação dos valores dos picos no histograma e, selecionando um TH mínimo e um TH máximo escolhido pelo operador baseados no valor dos dois picos, calcula-se o valor médio (no meio do vale entre os dois picos) e considera-o o TH ótimo (SALES, 2010). Esta abordagem é considerada robusta, pois os picos normalmente têm formatos bem definidos porém, por mais que sejam facilmente reproduzidos e consistentes, não necessariamente são precisos. Não há razão fundamentada para que o valor médio corresponda à borda ou fronteira entre duas regiões (RUSS & NEAL, 2017).

Muitos pesquisadores ainda buscam uma técnica que padronize a escolha de um TH ótimo para realizar a binarização das imagens, entretanto, até o presente momento, não existe nenhuma técnica padrão para tal escolha.

2.9.2 Segmentação automática

Em geral, a segmentação automática é uma das tarefas mais difíceis no processamento de imagens digitais pois está intimamente relacionada com a qualidade da imagem final. Desta forma, muitos dos métodos automáticos assumem em seus cálculos a existência de duas populações de valores de *pixel*, aplicando diferentes funções estatísticas na definição do limiar, maximizando a probabilidade de acerto no valor que representa as estruturas presentes. As diferenças matemáticas e suposições utilizadas em cada método não foram aprofundadas nesta tese, porém SEZGIN&SANKUR (2004) apresentam uma boa referência para aprofundamento, assim como OTSU (1979) e TRUSSEL (1979). Somente uma síntese de alguns métodos específicos, justificados a partir dos resultados deste trabalho foram abordados.

Utilizando o método Otsu (OTSU, 1979), um único limiar global é definido automaticamente, sendo possível esta definição no volume total do objeto ou por fatia. Desta forma, no software CTAn, as seguintes variáveis devem ser selecionadas para o algoritmo Otsu:

- Espaço 3D / 2D: Tal como acontece com a maioria dos plug-ins, o limiar Otsu pode ser aplicado em espaços 3D ou 2D.

2.9.3 Método Semiautomático por Limiar de Adaptação

Existem diferentes métodos que utilizam um algoritmo para a definição do *thresholding* baseados em informações ou após um *pré-thresholding* realizado pelo operador. Abaixo, estão as definições dos possíveis algoritmos para determinação do limiar adaptável apresentadas pelo software CTAn:

- Método adaptativo utilizando mediana C: Limiar de adaptação: para cada *voxel*, o limite é calculado como a mediana de todas as escalas de cinza de *pixel/voxel* dentro de um determinado raio selecionado;
- Método adaptativo utilizando média C: Limiar de adaptação: para cada *voxel*, o limite é calculado como a média de todos os tons de cinza *pixel/voxel* dentro de um determinado raio selecionado;
- Método adaptativo utilizando a média dos valores mínimo e máximo: Limiar de adaptação: para cada *voxel*, o limite é calculado como a mediana de todas as escalas de cinza de *pixel/voxel* dentro de um determinado raio selecionado.

Após a escolha do limiar adaptável, deve-se configurar sua ação sobre alguns parâmetros: executar no espaço 2d ou 3d; escolher um valor de raio de *pixel* para o processamento, e, escolher um valor de *offset* “constante”. Abaixo a definição de cara parâmetro:

- Raio: define o círculo dentro do qual o limiar é calculado, usando um dos três métodos (mediana, média, média de min e máx.). A constante aplica um deslocamento ao contraste de densidade mínima reconhecida pelo limiar. Aumentar a constante pode remover estruturas associadas ao ruído;
- Espaço: pode ser aplicado em 3D (analisa a esfera em torno de cada voxel) ou 2D (analisa o círculo em torno de cada voxel). O método 3D é mais preciso, mas leva significativamente mais tempo de processamento;
- Constante: quando um pré-limite é aplicado, então não é necessário definir uma constante, e o valor constante pode ser deixado em zero. Nesta tese, iremos trabalhar com um pré-limite, sendo esta escolha explicada abaixo.

Após a definição dos parâmetros acima, a parte "automática" dos métodos semiautomáticos está finalizada, faltando a definição do *pré-thresholding*, que é a parte em que o operador remove os cinzas em que, certamente, o limiar não se encontrará. O pré-limiar efetivamente delinea uma faixa marginal de densidade próxima às superfícies do objeto dentro da qual é aplicado o limiar de adaptação. Todos os *pixels* abaixo do pré-limite baixo serão fundo, ou setas pretas e, todos os *pixels* acima do limite superior são binarizados como objeto, branco.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Esta seção apresentará os materiais e métodos, assim como os equipamentos utilizados e suas características específicas, comumente utilizados nas quatro hipóteses desenvolvidas na introdução. A ordem lógica então, é trabalhar o processo de aquisição seguido do processamento de imagens, em que se finaliza com a segmentação do SCR, porém, isto resultaria em uma quantidade muito grande de variáveis em cada etapa, tornando inviável a análise dos dados e, posteriormente, dos resultados.

Portanto, deve-se ter em mente que os experimentos foram realizados em uma seqüência e colocados na ordem aquisição-reconstrução-filtragem-linearização a posteriori, para facilitar a leitura e entendimento do leitor desta tese. Assim, os algoritmos de segmentação foram definidos antes dos filtros, e estes, antes dos parâmetros de aquisição. Somente após a definição dos melhores métodos de processamento de imagens (segmentação e filtros) pode-se trabalhar com uma quantidade de dados que permita identificar e justificar a escolha energética na fase de aquisição.

Uma diagramação interessante de como um processamento de imagem se dá na prática pode ser vista na **Figura 7**. Nela, percebe-se que cada passo é dependente da informação gerado por outros.

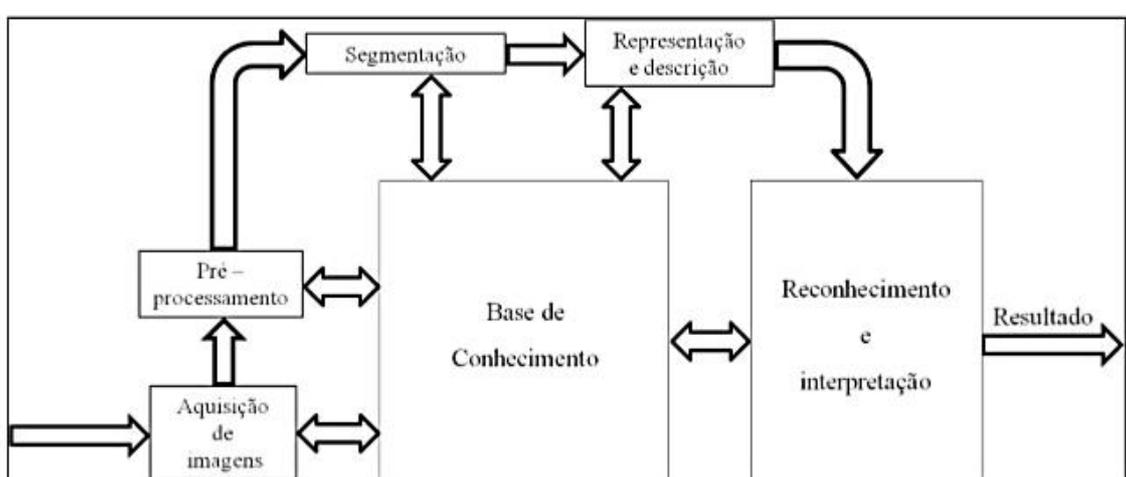


Figura 7. Diagrama da seqüência dos passos de processamento de imagem (GONZALEZ e WOODS, 2000)

Uma visão geral dos estudos, suas inter-relações e ordem pode ser visualizada na Fig. 8:

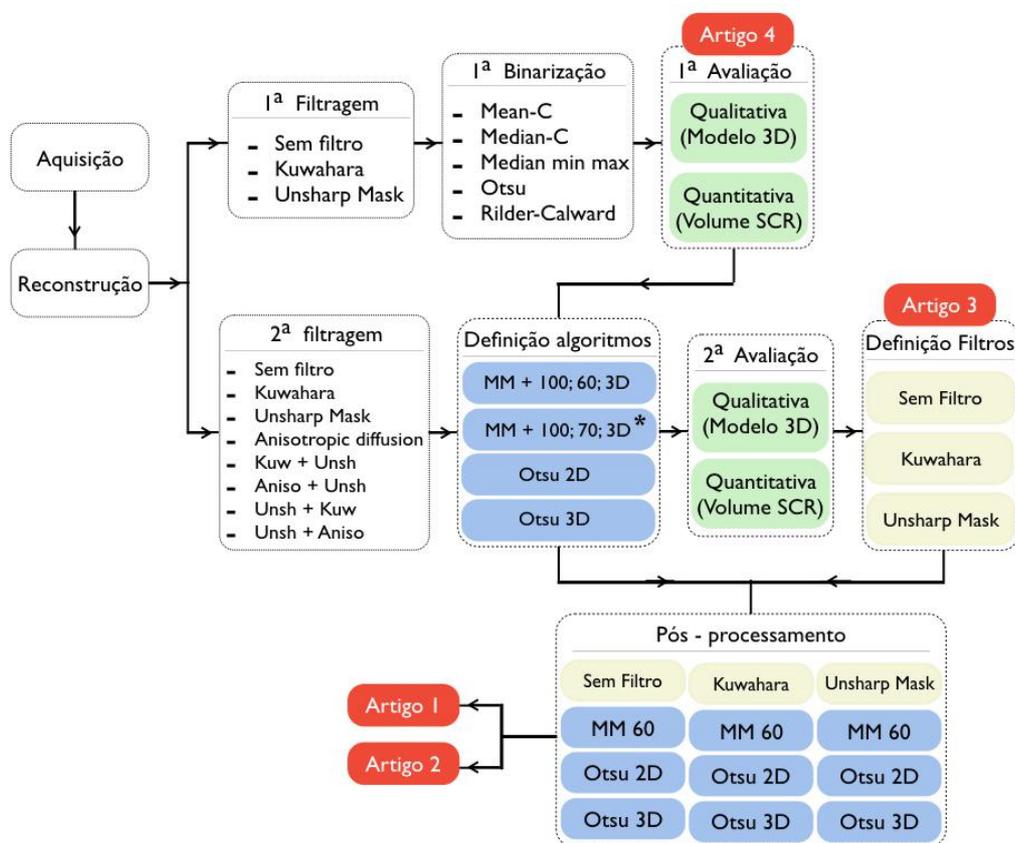


Figura 8. Diagrama mostrando uma visão geral dos estudos e suas inter-relações.

Ao analisar a Fig. 8 e as aquisições da amostra seguidas pelas reconstruções e o pós-processamento, note-se que o artigo número 4 foi o primeiro a ser abordado, seguido pelo de número 3 e, após a definição dos filtros e algoritmos de segmentação, abordou-se os artigos 1 e 2. O pós-processamento se inicia com uma primeira filtragem com os dois algoritmos, cada um representando um tipo de filtro, teoricamente mais indicados, assim como *datasets* sem filtragem, totalizando três grupos: “*Kuwahara*”, “*Unsharp mask*” e “*sem filtro*”.

Em seguida, estes grupos são utilizados para a definição dos algoritmos de segmentação mais apropriados para as aplicações propostas. Percebe-se, então, que a primeira hipótese a ser trabalhada nesta tese é referente ao último artigo, de número 4, e não haveria outra forma de realização devido à inviabilidade de se submeter todos os grupos do artigo 1 a todas as possibilidades de filtros e algoritmos de binarização.

Após análise quantitativa e qualitativa, tem-se a definição dos quatro algoritmos de segmentação mais apropriados. Soma-se este conhecimento às possibilidades de filtros: três filtros e quatro combinações entre filtros são testados que, juntamente com

o grupo não submetido a filtragem são avaliados para a definição dos filtros mais apropriados. Esta definição e discussão se encontram no artigo 3.

Finalmente, com a definição das melhores possibilidades de pós-processamento (Filtros e algoritmos de segmentação mais indicados) este conhecimento é aplicado nos artigos que trabalharam a resolução espacial (artigo 1) e os parâmetros energéticos (artigo 2). Neste último, são avaliados e relacionados os resultados do nível de ruído.

3.1 Amostra

Um dente extra-numerário (minisiso) com 19,5 mm de altura foi utilizado como modelo para os artigos 1, 2, 3 e 4 – **Figura 9**, sendo extraído por motivação não relacionada ao estudo e sua utilização foi aprovada pela Comissão de Ética Médica da KU Leuven (Commission for Medical Ethics of KU Leuven) sob o número de protocolo



S54254.

Figura 9. Mini-siso renderizado como modelo 3D (esquerda) e a relação entre anatomia interna (em vermelho) e externa, na figura da direita

3.2 Equipamentos

Para a análise da amostra foram utilizados três aparelhos de microtomografia, sendo dois de bancada, de alta energia desenvolvidos pela Skyscan/Bruker, modelos 1172 e 1173, pertencentes ao Departamento de metalurgia e Engenharia de materiais

da *KU Leuven* e Laboratório de Instrumentação Nuclear - UFRJ, respectivamente. O terceiro microtomógrafo é um *Phoenix NanoTom* desenvolvido pela *General Electric – GE*, também pertencente ao Departamento de metalurgia e Engenharia de materiais da *KU Leuven*.

Como os aparelhos de microtomografia por raios X são tipicamente personalizados, é impossível fornecer uma descrição detalhada de seus princípios e operações, desta forma a tabela 1 resume as especificações dos principais componentes de cada aparelho, seguido de textos individualizados para maior detalhamento. O material apresentado nesta e nas próximas seções é uma combinação de informações fornecidas pelos fabricantes dos sistemas e literatura disponível.

Para uma visão técnica mais completa da TC, recomenda-se a publicação ASTM E1441-92a (ASTM, 1992) como um excelente ponto de partida. (KETCHAM *et al.*, 2001)

Tabela 1. Resumo das especificações dos principais componentes por aparelho

	1172	1173	NanoTom
Potência Energética	10 Watts	8 Watts	20 Watts
Voltagem de pico	100 kV	130 kV	180 kV
Min focal spot size	<5 μm	<5 μm	0,3 μm
Detail detectability	<1 μm	<4-5 μm	0,2 μm
Detector	CCD 12 bits - 11 Megapixel	Flat Panel 12 bits	Flat Panel 14 bits
Pixels Detector	4000 x 2300	2240 x 2240	3072 x 2400
pixel size	50 μm	50 μm	100 μm
Magnificacao	0,3-34,8 μm		1,5 - 300 x
Anodo	Tungstenio	Tungstenio	Tungstenio ou Molybdenio
filamento	Tungstenio	Tungstenio	Tungstenio
Outros:	air-cooled	Distortion-free flat panel	DXR digital com estabilizacao de temperatura
	thermal drift correction		estabilidade focal extremamente alta

3.2.1 Skyscan 1172

O Skyscan 1172 é um tomógrafo de bancada para amostra *ex-vivo*, possuindo 50mm FOV (largura de campo da imagem) e um detector de raios-X CCD de 12 bits refrigerado opticamente acoplada ao cintilador, com 11Mpixels totalmente corrigido de distorção. A fonte de raios-X permite um espectro de pico entre 20-100kV, trabalhando em potência de 10Watts, com um tamanho de ponto focal menor que 5 μm . A detectabilidade, segundo o fabricante, é de 1 μm na resolução mais alta, até 25 μm (Figura 10).

É importante ressaltar que o Skyscan 1172 possui uma geometria de aquisição dinâmica variável que permite diferentes magnificações (recursos de geometria adaptativa explicados mais detalhadamente abaixo).

Imagens de seção transversal são geradas em formatos de até 8000 x 8000 pixels, sendo o tamanho máximo do objeto de 50 mm de diâmetro ou altura, com 50mm de FOV.

Geometria adaptável que dá escolhas de resolução variáveis e colocação das amostras variáveis a partir da fonte: o Skyscan 1172 possui posicionamento de amostra com mudança automática e ampliação de amostra variável para digitalização (geometria adaptativa). Essa arquitetura de última geração, na qual tanto a amostra quanto a câmera de raios-x (o detector), podem ser movidas para mais perto ou para longe da fonte, conforme necessário, nos permite encontrar uma ampliação cada vez maior (resolução) e as necessidades de tamanho do investigador e da amostra, respectivamente. Este recurso permite capacidades de alto desempenho pois tem uma resolução nominal (tamanho de pixel) inferior a 1 μm . No entanto, esse design de geometria flexível também permite que um usuário reduza o desempenho do instrumento para um tamanho de pixel de 25 μm (tendo capacidade de tamanho de pixel variável entre 1-25 μm). Geometria de aquisição dinâmica variável, onde a amostra e o detector podem se mover para próximo da fonte de raios-x, o que permite melhorar a resolução e trabalhar com voltagem de pico menor.



Figura 10. Sistema Skyscan/Bruker modelo 1172

3.2.2 Skyscan 1173

Também de bancada, o Skyscan 1173 (Figura 11), possibilita o escaneamento de objetos com diâmetro máximo de 140mm e comprimento máximo de 200mm. Diferentemente do 1172, não possui geometria de aquisição dinâmica variável e a manipulação da amostra se dá através de uma mesa micrométrica, que realiza movimentos nos três eixos, com rotação no eixo z, permitindo que haja magnificação da imagem através da aproximação em direção à fonte.

O Sistema contém um tubo de raios X microfocado com anodo de tungstênio (W, Z=74), produzido pela Hamamatsu, modelo L9181, com ponto focal de 5 μm . A tensão pode variar de 40 a 130kV, corrente máxima de 200 μA e sua potência máxima é de 8W (HAMAMATSU PHOTONICS, 2012 a) e, de acordo com dados fornecidos pelo fabricante do tubo de raios X deste aparelho, seu tamanho focal, operando neste

intervalo de potência (1W-8W), não ultrapassa $8\mu\text{m}$ (HAMAMMATSU PHOTONICS, 2012a). Neste contexto, Atila (2015) obteve resultados que indicam que o tamanho focal máximo medido foi igual a $8,24\pm 1,38\ \mu\text{m}$ na direção horizontal e a $8,12\pm 1,13\ \mu\text{m}$ na direção vertical, apresentando uma boa concordância com os valores fornecidos pelo fabricante.

Figura 11. Sistema de alta energia Skyscan/Bruker modelo 1173.



O detector usado é um sensor do tipo *flat panel* com matriz de 2240×2240 pixels, com tamanho de pixel de $50\mu\text{m}$ e 12bits de range dinâmico, produzido pela Hamamatsu, modelo C7942SK-05, com material cintilador de Oxissulfeto de Gadolínio (GSO) (HAMAMMATSU PHOTONICS, 2012 b). As aquisições das imagens são realizadas por transmissão de feixes de raios X, este com formato cônico, e o objeto pode ser rotacionado 180° ou 360° a passos angulares fixos. A cada passo é gerada uma projeção, sendo a média de diferentes frames, que é salva em um arquivo pré-determinado.

3.3.3 Phoenix NanoTom – GE

Tendo um porte maior que os dois tomógrafos descritos anteriormente, o Phoenix NanoTom (Figura 12) pode trabalhar com tensão máxima de 180kV, e potência máxima de 20 W, com detecção de detalhes de até 200 nm e até 300 nm de tamanho mínimo de voxel, sendo otimizada a sua estabilidade para longas aquisições. Possui alta resolução espacial e de contraste em uma ampla faixa de amostra - desde material pequeno até amostras de plástico de tamanho médio cobrindo 3 ordens de magnitude ($0,25\ \text{mm } \varnothing$ a 250 mm de altura de amostra) e 3 kg de peso.

Sua base de granito possui alta estabilidade, manipulador com isolamento vibracional e cabine com temperatura estabilizada, sendo o detector, GE DXR digital,

com estabilização de temperatura com matriz de 3.072 x 2.400 pixels, com alta faixa dinâmica alto (> 10.000: 1) e geometria de aquisição variável.



Figura 12. Sistema Phoenix NanoTom.

3.4 Aquisição

Um cilindro de isopor foi confeccionado, onde a amostra foi incluída e presa ao isopor por cera utilidade. Após este procedimento, todo o cilindro foi vedado com parafina em fita e fixado nos diferentes sistemas microtomográficos, utilizando o mesmo suporte cilíndrico de alumínio, confeccionado com diâmetro similar ao da amostra, a fim de mantê-la imóvel e reduzir o risco de possíveis artefatos por desalinhamento e movimentação entre as aquisições.

As aquisições foram feitas na mesma posição, porém, em energias distintas em três diferentes microtomógrafos: Skyscan 1173 e 1172 (Bruker Co., Kontich, Belgium) e NanoTom (Phoenix Nanotom, GE Inspection Technology, Lewistown, USA) em três diferentes potências de energia (8W, 10W e 15W), obtendo-se ao final 21 diferentes parâmetros em quatro diferentes grupos: Skyscan 1172 e Skyscan 1173 em 8 Watts, Skyscan 1172 em 10 Watts, e NanoTom em 15 Watts. Foi possível comparar os mesmos parâmetros em tomógrafos diferentes: Skyscan 1172, Skyscan 1173 e Nanotom utilizando 8 Watts (70kV / 114 μ A); e Skyscan 1172 and NanoTom utilizando 10 Watts (100kV / 100 μ A).

Para facilitar a visualização, a seguir temos a **Tabela 2**, listando todos os testes realizados e os parâmetros para cada caso:

Tabela 2. Vinte e um parâmetros de aquisição diferentes (relação kV/ μ A) distribuídos em três diferentes potências de raios-X.

8 W				10 W		15 W	
Skyscan 1173 BRUKER		Skyscan 1172 BRUKER		Skyscan 1172 BRUKER		Phoenix NanoTom General Electric - GE	
40 kV	200 μ A	40 kV	200 μ A	50 kV	200 μ A	50 kV	300 μ A
50 kV	160 μ A	50 kV	160 μ A	60 kV	167 μ A	60 kV	250 μ A
55 kV	145 μ A			70 kV	142 μ A	70 kV	214 μ A
60 kV	133 μ A	60 kV	133 μ A	80 kV	124 μ A	80 kV	188 μ A
65 kV	123 μ A			90 kV	112 μ A	90 kV	167 μ A
70 kV	114 μ A	70 kV	114 μ A	100 kV	100 μ A	100 kV	100 μ A

Na tabela 2, nota-se que dois parâmetros iguais foram utilizados em diferentes equipamentos, podendo ser visualizados nos quadrados azul e verde.

Os parâmetros de aquisição, excluindo-se a energia aplicada, podem ser visualizados na Tabela 3:

Tabela 3. Parâmetros da aquisição por grupo de tomógrafo

	1172_8W	1172_10W	1173_8W	Nano
Pixel Size	16.36	16.36	16.38	16.50
Número de Frames	5	5	5	1
Step	0.5	0.5	0.5	0.15
360°	Sim	Sim	Sim	Sim
Linhas	1048	1048	1120	2304
Colunas	680	680	582	2304
TIFF 16 bits	Sim	Sim	Sim	Sim
Filtro de Alumínio 0.5mm	Sim	Sim	Sim	Sim
Correção de Flat field	Sim	Sim	Sim	Não
Random moviment	Sim	Sim	Sim	Não

A aquisição de referência foi realizada com os mesmos parâmetros de aquisição expostos na tabela 3 para as aquisições do grupo NanoTom, porém com uma magnificação maior, o que proporcionou um tamanho de pixels de 4,5 μm .

3.5 Reconstrução

Todas as reconstruções foram realizadas no NRecon software v. 1.7.3.1 (Bruker microCT, Bélgica) e InstaRecon® v.1.3.9.2 (IR-CBR Server) e, as imagens pós-reconstrução, gravadas em formato .bmp (8 bits).

Os parâmetros de reconstrução foram determinados com base no método proposto pelo desenvolvedor do software NRecon (SKYSCAN, 2013). Desta forma, o valor de correção de artefatos de anel, endurecimento de feixe, suavização e o intervalo dinâmico de níveis de cinza foi o mesmo em todos os *datasets* advindos do mesmo tomógrafo. O alinhamento foi determinado por *dataset*.

Para não haver grande discrepância entre as escalas de nível de cinza entre os diferentes tomógrafos, e por este parâmetro ser considerado crítico para as avaliações propostas, o método de determinação do intervalo dinâmico teve a sua escolha de acordo com a técnica onde o limite mínimo é zero e o limite máximo está na faixa de 10 - 20% do máximo de cinza do histograma gerado com base nas projeções radiográficas (imagens brutas). Desta forma, a “janela de graus de cinza” final foi similar entre os diferentes tomógrafos e energias de aquisição (SKYSCAN, 2013).

3.6 Parâmetros estudados

O pós-processamento dos diferentes *dataset* foi realizado no software CTAn v.1.18.4.0 (Bruker microCT, Bélgica).

A região apical do dente foi escolhida para este estudo devido à maior incidência de estruturas complexas anatômicas e incidência de infecção. A alta prevalência de canais acessórios na região apical está de acordo com estudos anteriores e confirma que o número de canais acessórios aumentou na direção coronal-apical (KIM *et al.*, 2013). Essas complexidades apicais também poderiam explicar que a maioria das periodontites apicais pós-tratamento é causada por bactérias localizadas no sistema de canais radiculares apicais (ANTUNES *et al.*, 2015).

Os estudos foram realizados sobre o terço apical da amostra, por apresentar maior número de acidentes e complexidade anatômicas, sendo definido como os últimos 4mm da raiz que, nesta amostra, foi equivalente a 245 fatias. Como houve uma pequena diferença no tamanho do *pixel* nos diferentes tomógrafos, sua extensão total foi: 4,009mm no grupo 1172_8W; 4,008mm no 1172_10W; 4,014mm no 1173; e, 4,042mm no NanoTom.

O volume total do canal da referência não foi utilizado para comparação entre tomógrafos devido à incerteza associada a aquisição não ter sido realizada na mesma posição das aquisições em 16,50 μm , pela necessidade de maior magnificação. Desta forma, somente as estruturas visualizadas qualitativamente serviram de referência para o método de graduação simples.

3.6.1 Análise Qualitativa

A alta confiabilidade do método permite que sua avaliação qualitativa seja realizada por somente um observador (FREITAS *et al.*, 2002), porém, nesta tese, dois experientes endodontistas, com conhecimento prévio em micro-tomografia, avaliaram o sistema de canais radiculares usando o volume renderizado em 3D e o conjunto completo de fatias axiais. Para isto, utilizaram os softwares CTVox (versão 3.3.0 r1403 – 64 bits), DataViewer (Versão 1.5.6.2 - 64 bits), ambos desenvolvidos pela Bruker microCT, e o programa Isee v. 1.11.1 (German Federal Institute for Materials Research and Testing, BAM).

Como referência para avaliação qualitativa, o terço apical da amostra foi adquirido utilizando os mesmos parâmetros de aquisição do grupo NanoTom, porém, com magnificação maior (tamanho de pixel de 4.5 μm). Após a reconstrução, não foi utilizado pós-processamento, e esta imagem foi chamada de "amostra de referência".

A avaliação foi realizada por método de comparação direta entre os diferentes datasets (tanto em escala de cinza quanto após segmentação) e a referência, e as seguintes observações foram registradas: (a) Quais estruturas foram visualizadas; (b) Se estas estruturas se apresentavam similares ou diferentes à da referência; e, (c) se houve a incidência de novas estruturas em relação às visualizadas na referência. A **Figura 13** é uma imagem bidimensional do modelo 3D da referência, realizada no software CTVox (versão 3.3.0 r1403 – 64 bits), onde podem ser visualizadas algumas das estruturas que serviram de base para a comparação direta.

3.6.2 Análise Quantitativa

A análise quantitativa foi realizada no software CTAn v.1.18.4.0 (Bruker microCT, Bélgica), utilizando o fluxo de trabalho discriminado abaixo.

Após o carregamento do *dataset* de aquisição, foi salvo um novo *dataset* com o volume de interesse (VOI), neste caso as fatias referentes ao terço apical, sendo definido como o volume a partir da primeira fatia após o final do ápice da raiz,

considerada a número 0, e somadas a esta, 245 fatias para completar o volume total. Este volume foi salvo como um novo *dataset*.

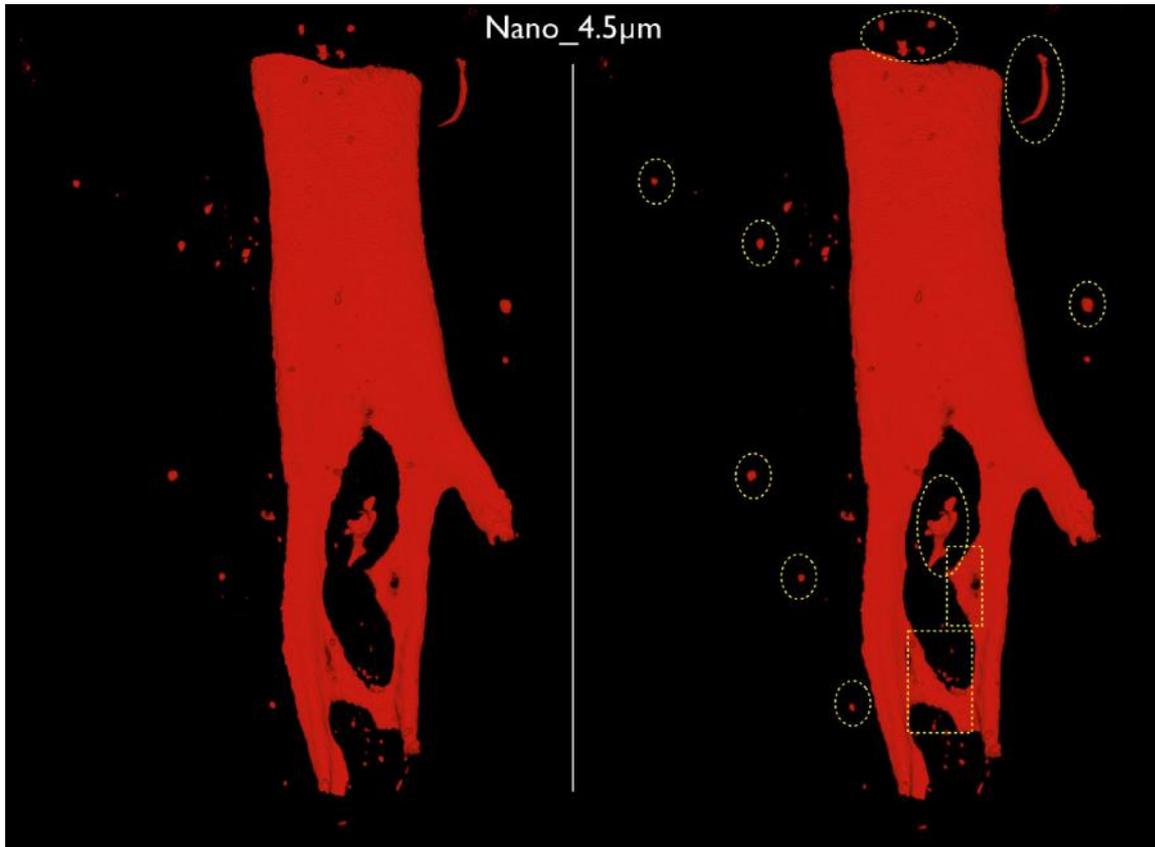


Figura 13. a). Modelo tridimensional gerado a partir de aquisição utilizando 4,5 µm de tamanho de pixel. b). Em amarelo algumas das estruturas que foram utilizadas como parametro de comparacao qualitativa.

O próximo passo então foi a utilização dos filtros, o que será explicado com mais detalhes no artigo 3 da presente tese. Após a filtragem do *dataset*, a ferramenta "*ROI shrink-wrap*" foi utilizada para definir a região de interesse (ROI) de cada fatia, resultando no volume total do terço apical da raiz. Este ROI é importante para a remoção do background, através de operações morfológicas, já que sua presença acarretaria mudanças no histograma, por considerar os níveis de cinza externos à amostra, e influenciar posteriormente nos resultados da binarização.

Após a utilização dos filtros e remoção do background, cada *dataset* foi gravado para posterior segmentação como explicado no artigo 4. Após a binarização, as amostras foram quantificadas utilizando o programa CTAn v.1.18.4.0 (Bruker microCT, Bélgica). O volume total do SCR (em mm³) foi utilizado na análise quantitativa, ao mesmo tempo em que foi renderizado em volume 3D para auxílio na análise qualitativa

3.6.2.1 SNR

Os valores de SNR_N foram obtidos utilizando o programa Isee v. 1.11.1 (German Federal Institute for Materials Research and Testing, BAM) através da equação:

$$SNR_N = \frac{SNR_{média} \cdot 88,6}{BSR}$$

Este cálculo foi realizado pelo software baseado em valores advindos da seleção de regiões de interesse retangulares (base 20 x altura 55 pixels), em 30 diferentes pontos na região de fundo das projeções radiográficas da aquisição, como pode ser visto na **Figura 14**.

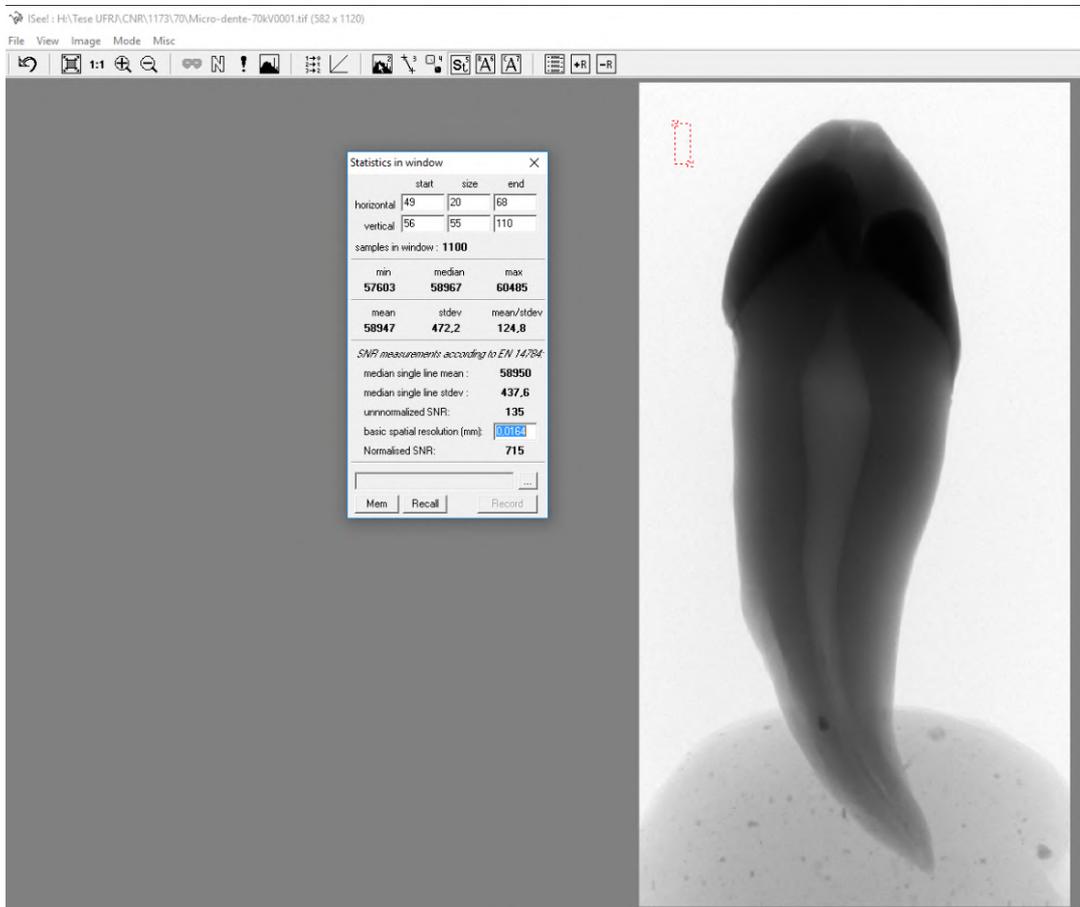


Figura 14. Imagem do software Isee mostrando a projeção à direita e o quadro com o cálculo da SNR. Em azul, o valor do tamanho do pixel de aquisição e, logo abaixo, o valor da SNR.

O ruído de um sinal pode ser definido como as variações aleatórias em seu valor devido às mais diversas razões, conforme discutido no capítulo de fundamentação teórica. Neste estudo, utilizando três projeções radiográficas sob a variação da tensão

da fonte de raios X nos três diferentes tomógrafos, realizaram-se as investigações de SNR em dez regiões com área igual a 20x55 pixels, conforme sugerido pela norma EN 14784-1 (EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION, 2005) com auxílio do programa Isee v. 1.11.1 (German Federal Institute for Materials Research and Testing, BAM).

3.7 Teste Estatístico

Após a verificação da normalidade e homogeneidade, foi utilizada a análise de variância ANOVA (SPSS statistics 21, IBM Corp. Chicago, IL, USA) com nível de significância de 95% seguido por Tukey HSD post-hoc e correção de Bonferroni para testes múltiplos.

4. RESULTADOS

4.1 Artigo 1: Resolução espacial: as informações descritas em trabalhos de microCT em Endodontia são suficientes para a correta interpretação, comparação e replicação de resultados adquiridos?

Como visto na fundamentação teórica, não há parâmetro mais importante entre os três pilares da qualidade de imagens: contraste, resolução espacial (RE) e ruído. Porém, muitos autores indicam que a RE pode ser a medida mais relevante e significativa de um dispositivo tomográfico para as metas de pesquisa e produção (CARL ZEISS MICROSCOPY GMBH, 2013; BRUKER, 2017).

A resolução espacial é de interesse especial para aplicações odontológicas, pois reflete o desempenho total do sistema e define a precisão na determinação da borda do objeto estudado. Por conseguinte, o que pode ser visualizado e medido que, em endodontia significa os detalhes anatômicos, a presença de poros não relacionados ao canal principal, os “segmentos calcificados”, a falta de comunicação entre canais menores e o canal principal, além de afetar a mensuração de procedimentos importantes, como a instrumentação dos canais radiculares por este ser medido pela quantidade de área tocada pela lima, entre outros (BERGMANS, 2001; PARK, 2009; GU, 2009; JUN, 2013; DE-DEUS, 2014; ELAYOUTI, 2014; BELLADONNA, 2018).

SANTOS (2012), utilizando o mesmo tomógrafo de bancada, demonstrou o ganho de informação que se tem, em uma mesma amostra, com a diminuição do tamanho do pixel e sua conseqüente melhora na resolução espacial, relacionando estes dois conceitos com o ganho qualitativo, como visto na **Figura 15**:

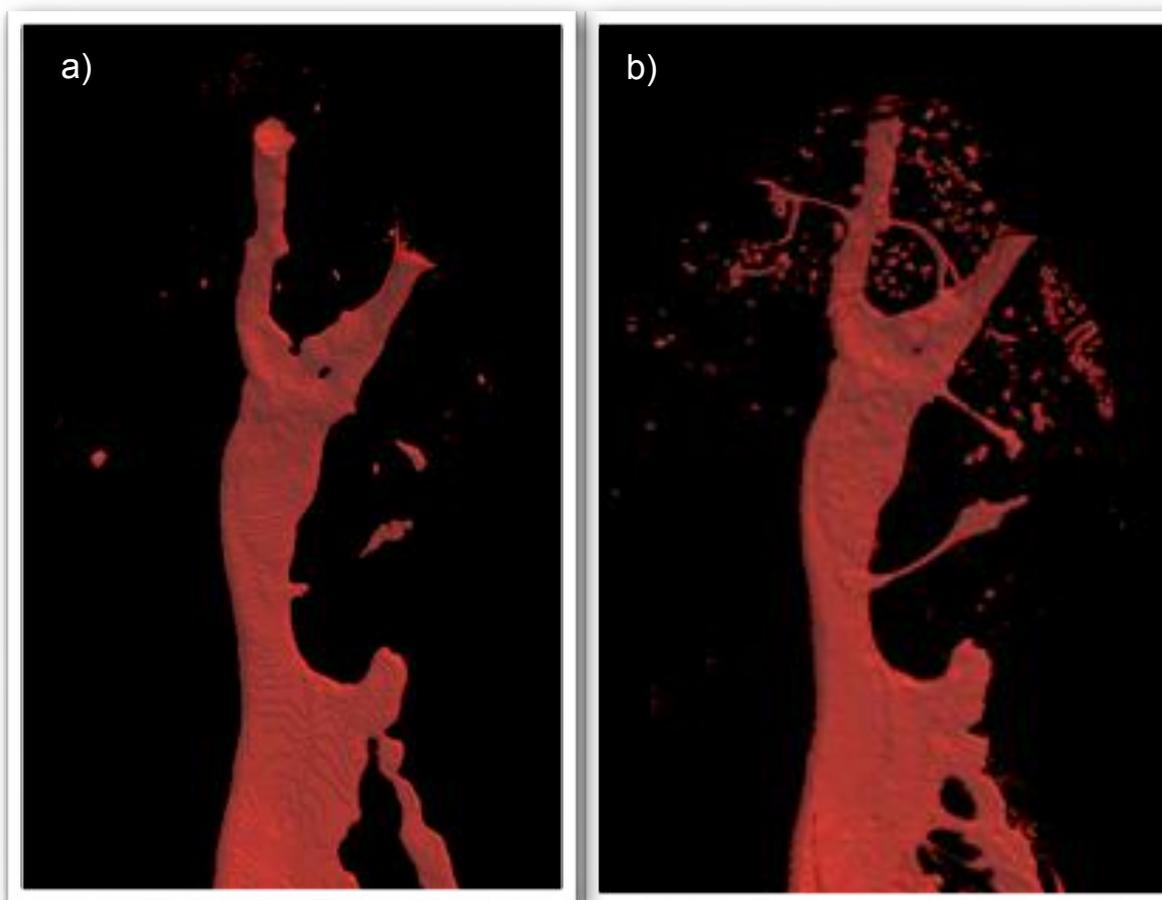


Figura 15. Terço médio e apical de raiz mesio-vestibular escaneada na mesma posição por dois parâmetros diferentes a) Pixel: 14,8 μm ; Flat Pannel sensor 1024x1024; Resolução: 21,4 μm . b) Pixel: 5,9 μm ; Flat Pannel sensor 2248x2248; Resolução: 14,9 μm (SANTOS, 2012).

A significância da RE se deve, entre outros fatores, à abrangência do seu cálculo, que é afetada por vários fatores técnicos, incluindo: o tamanho do ponto focal da fonte de raios X; resolução do detector; estabilidade vibracional, elétrica e térmica; geometria de ampliação e outras condições de imagem que dificultam a previsão ou a estimativa a partir dos parâmetros técnicos do sistema (CARL ZEISS MICROSCOPY GMBH, 2013; EUROPEAN STANDARD, 2004; BRULLMANN & SCHULZE, 2015).

Embora a definição de resolução possa ser considerada simples e direta, diversos termos não equivalentes são usados para representar e descrever as capacidades de resolução de instrumentos tomográficos 3D, como por exemplo: resolução espacial; tamanho de pixel; tamanho do *voxel*; resolução nominal (CARL ZEISS MICROSCOPY GMBH, 2013). Esses outros termos são colaboradores isolados

para RE e, por si só, não descrevem a performance de um sistema como um todo (BRUKER, 2017).

Neste sentido, os trabalhos na área da Odontologia que utilizaram a técnica de microCT, de forma geral, não informam a correta resolução espacial, mas sim as características inerentes à prática tomográfica, tais como marca e modelo do microtomógrafo, a energia utilizada, o passo de rotação, e, mais comumente, o tamanho do *pixel* (VERMA & LOVE, 2011; MANNOCCI *et al.*, 2005). Cada um desses termos transmite representações muito diferentes do desempenho do sistema e, a não compreensão desses numerosos termos, usados na literatura para descrever uma resolução que, se não for claramente entendida, pode confundir a comparação entre sistemas (CARL ZEISS MICROSCOPY GMBH, 2013).

Devido a sua influência na detecção de detalhes significativamente relevantes com a diminuição do tamanho do pixel (VIDAL *et al.*, 2014), entre todos estes parâmetros, o tamanho de pixel é o mais comumente associado e frequentemente confundido na literatura com resolução espacial (VERMA & LOVE, 2011; MANNOCCI *et al.*, 2005; BERGMANS, 2001; PARK, 2009; GU, 2009; JUN, 2013; DE-DEUS, 2014; ELAYOUTI, 2014; BELLADONNA, 2018). Não sendo rara a interpretação de que "quanto menor o *voxel size*, melhor a resolução espacial, o que resulta em uma imagem de maior qualidade". Deve-se ter em mente que o tamanho do pixel é apenas um dos fatores utilizados no cálculo da resolução espacial segundo a norma EN14784-1 (EUROPEAN STANDARD, 2004).

Em vista disso, nota-se uma lacuna na transferência de conhecimento entre a comunidade técnica e a odontológica. Desta forma, é importante fornecer e resumir informações científicas tecnicamente sólidas sobre este significativo parâmetro na literatura não-técnica (BRULLMANN & SCHULZE, 2015).

O objetivo deste trabalho foi discutir e demonstrar a importância dos outros fatores que influenciam a RE, mostrando a real importância do tamanho do *pixel* na determinação desta, através da investigação qualitativa e quantitativa da imagem final fornecida por três microtomógrafos diferentes. Busca-se fundamentar uma comparação objetiva dos sistemas de forma a permitir uma comparação imparcial dos resultados advindos desta metodologia. Desta forma, será verificado se há mudanças qualitativas e quantitativas significativas entre diferentes tomógrafos quando se utilizam os mesmos parâmetros de aquisição.

4.1.1 Materiais e métodos

As aquisições foram realizadas somente na amostra base desta tese (minisiso)

em dois protocolos diferentes em que se variou a potência utilizada (8 e 10 watts). Para a potência de 8 watts, foi utilizada a configuração de 70 kV, 114 μ A e, para a potência de 10 watts, a configuração de 100 kV, 100 μ A. Em todas as aquisições mantiveram-se os mesmos parâmetros de aquisição, inclusive o tamanho de pixel, nos três equipamentos de microtomografia diferentes.

Ao final, tinha-se três diferentes *datasets* para o grupo de 8 watts: Skyscan 1172 em 8 Watts (1172_8W), Skyscan 1173 (1173) e no Phoenix Nanotom (NanoTom_8W), e, para o grupo de 10 watts de potência (100kV, 100 μ A), somente no Skyscan 1172 (1172_10W) e no Phoenix Nanotom (NanoTom_10W), como visto no esquema apresentado na **Figura 16**:

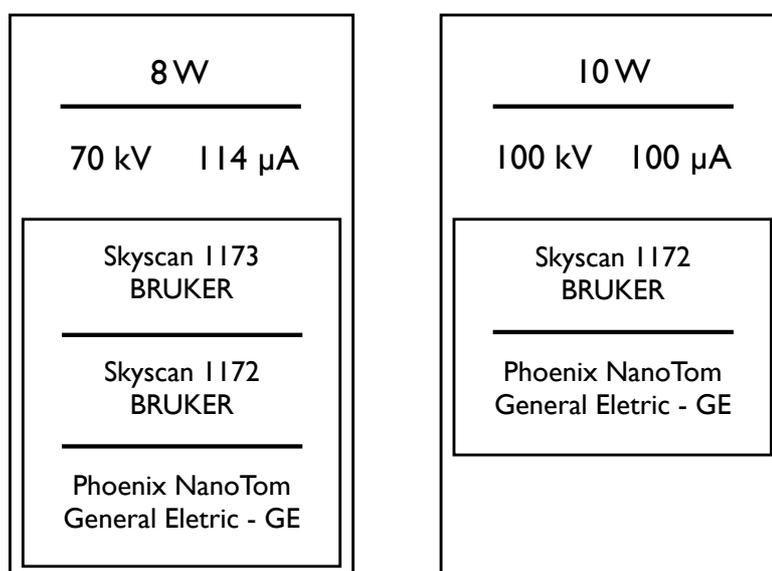


Figura 16. Cinco datasets diferentes foram obtidos em três aparelhos de microtomografia, mantendo-se os mesmos parâmetros e tamanho de pixel.

Os parâmetros de reconstrução utilizados foram expostos anteriormente na presente tese, na seção de materiais e métodos. Cada *dataset* foi então submetido primeiramente a filtragem (*Kuwahara* e *Unsharp Mask*), tendo ao final três grupo: "no filter" (datasets originais), "Kuwahara" e "Unsharp Mask". Após a filtragem, os três grupos foram submetidos a três algoritmos de segmentação diferentes: "Mean of min and máx 60 (MM60)", "Otsu 2D" e "Otsu 3D". A escolha dos filtros e algoritmos de segmentação será justificada no artigos 3 e 4, respectivamente. Desta forma, obtiveram-se 27 datasets em 8 watts e 18 datasets em 10 W, que podem ser vistos nas **Tabelas 4 e 5**:

Tabela 4. Os 27 datasets finais, relativos ao aparelho 1172, 1173 e NanoTom, em 8 watts separados em colunas referentes aos filtros utilizados.

Grupos em 8 Watts		
1172_8W + no filter + MM60 1172_8W + no filter + Otsu2D 1172_8W + no filter + Otsu3D 1173 + no filter + MM60 1173 + no filter + Otsu2D 1173 + no filter + Otsu3D NanoTom + no filter + MM60 NanoTom + no filter + Otsu2D NanoTom + no filter + Otsu3D	1172_8W + Kuwahara + MM60 1172_8W + Kuwahara + Otsu2D 1172_8W + Kuwahara + Otsu3D 1173 + Kuwahara + MM60 1173 + Kuwahara + Otsu2D 1173 + Kuwahara + Otsu3D NanoTom + Kuwahara + MM60 NanoTom + Kuwahara + Otsu2D NanoTom + Kuwahara + Otsu3D	1172_8W + Unsharp Mask + MM60 1172_8W + Unsharp Mask + Otsu2D 1172_8W + Unsharp Mask + Otsu3D 1173 + Unsharp Mask + MM60 1173 + Unsharp Mask + Otsu2D 1173 + Unsharp Mask + Otsu3D NanoTom + Unsharp Mask + MM60 NanoTom + Unsharp Mask + Otsu2D NanoTom + Unsharp Mask + Otsu3D

Tabela 5. Os 18 datasets finais, relativos ao aparelho 1172 e NanoTom, em 10 watts separados em colunas referentes aos filtros utilizados.

Grupos em 10 Watts		
1172_10W + no filter + MM60 1172_10W + no filter + Otsu2D 1172_10W + no filter + Otsu3D NanoTom + no filter + MM60 NanoTom + no filter + Otsu2D NanoTom + no filter + Otsu3D	1172_10W + Kuwahara + MM60 1172_10W + Kuwahara + Otsu2D 1172_10W + Kuwahara + Otsu3D NanoTom + Kuwahara + MM60 NanoTom + Kuwahara + Otsu2D NanoTom + Kuwahara + Otsu3D	1172_10W + Unsharp Mask + MM60 1172_10W + Unsharp Mask + Otsu2D 1172_10W + Unsharp Mask + Otsu3D NanoTom + Unsharp Mask + MM60 NanoTom + Unsharp Mask + Otsu2D NanoTom + Unsharp Mask + Otsu3D

As avaliações, tanto qualitativas quanto quantitativas, foram realizadas como exposto na seção de Materiais e métodos da presente tese.

4.1.2 Resultados

Houve correlação absoluta entre os resultados qualitativos e quantitativos, e significativa diferença entre os datasets provenientes dos diferentes tomógrafos. O aumento na visualização de estruturas, acompanhados de um aumento de volume do SCR, assim como a qualidade da imagem foi vista na seguinte ordem, da melhor para a pior: *NanoTom* > *1173* > *1172_8W*, para o grupo de 8 Watts, e, *NanoTom* > *1172_10W*, independentemente do pós-processamento, como podem ser analisados nas **Figuras 17 e 18**, simultaneamente a **Tabela 6** com os valores de volume do SCR.

Tabela 6. Valores relativos ao volume total do SCR dos grupos 8 Watts e 10 Watts nos diferentes filtros e algoritmos de segmentação:

Volume SCR - Comparando diferentes Tomografos com os mesmos parametros											
			KUWAHARA			NO FILTER			UNSHARP		
			MM 60	Otsu 2D	Otsu 3D	MM 60	Otsu 2D	Otsu 3D	MM 60	Otsu 2D	Otsu 3D
8W	1172_8W	70-114	0,24100	0,24548	0,24560	0,19673	0,23339	0,23671	0,24099	0,26943	0,27059
	1173_8W	70-114	0,28113	0,28087	0,28085	0,32294	0,29929	0,30087	0,33809	0,32313	0,32411
	NanoTom	70-114	0,31947	0,32718	0,33330	0,31911	0,31514	0,32548	0,31923	0,31559	0,32646
10W	1172_10W	100-100	0,27937	0,28288	0,28328	0,23854	0,27741	0,27938	0,28270	0,31100	0,31368
	NanoTom	100-100	0,31851	0,31834	0,31844	0,31336	0,31066	0,31167	0,32390	0,32248	0,32269



Figura 17. Fotografia 2D da renderização 3D dos 27 datasets finais, relativos ao aparelho 1172, 1173 e NanoTom, em 8 watts separados em colunas referentes aos filtros utilizados

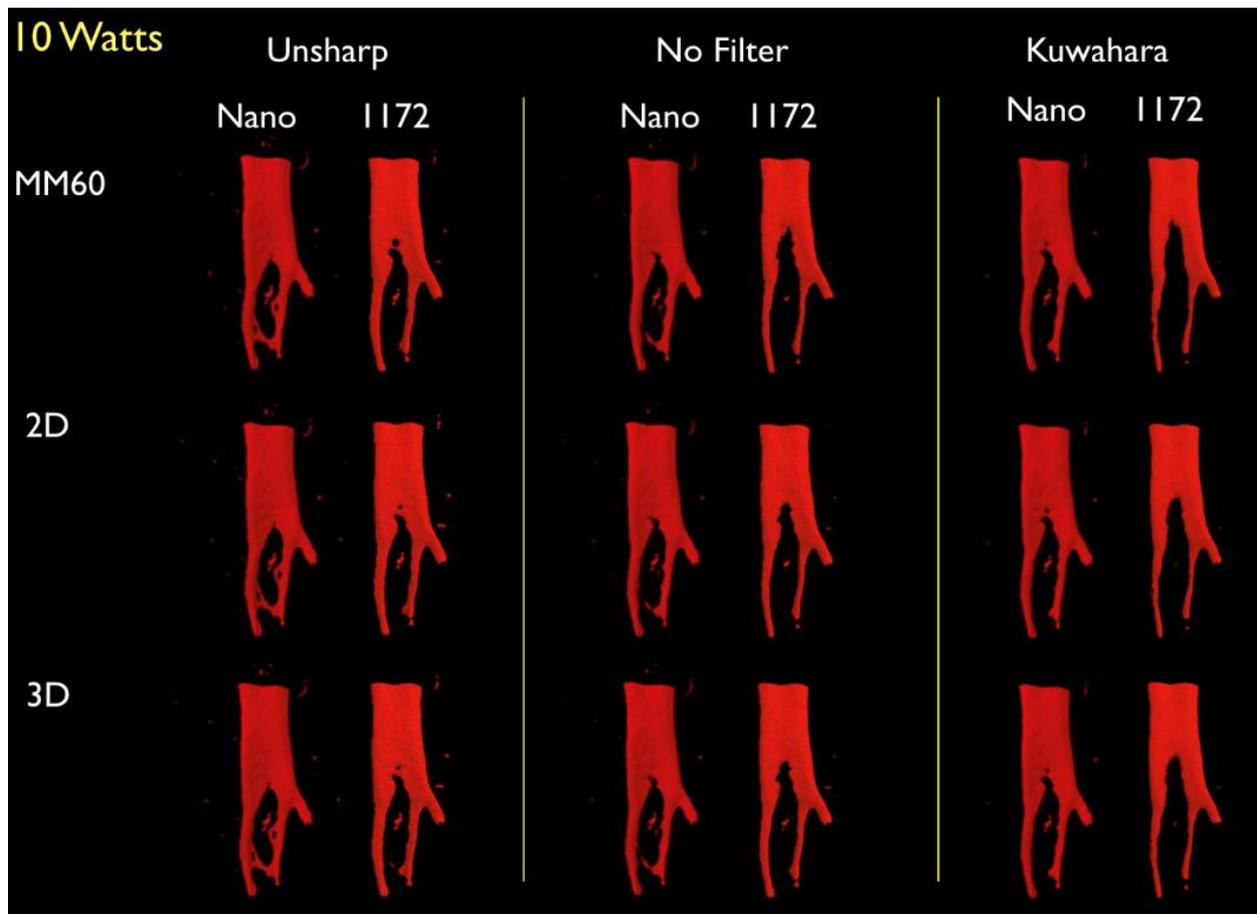


Figura 18. Fotografia 2D da renderização 3D dos 18 datasets finais, relativos ao aparelho 1172 e NanoTom, em 10 watts separados em colunas referentes aos filtros utilizados

4.2 - Artigo 2: A importância dos parâmetros energéticos da aquisição tomográfica na resolução espacial e sua relação com ruído.

O potencial de aplicação da tecnologia de microCT é permitido e limitado por seus fatores físicos e técnicos. Desta forma, ao se planejar um estudo utilizando esta técnica, a primeira tarefa deverá ser o estudo da amostra com o intuito de identificar os objetivos e materiais que serão estudados na imagem. Esses requisitos orientam as decisões sobre os parâmetros ideais de aquisição, incluindo: as características do equipamento de micro-tomografia; a energia do feixe de raios X e sua intensidade; o tamanho do ponto focal, se houver; e, se a amostra deve ser aquiritada no ar ou embalada em conjunto com liquido. (KETCHAM *et al.*, 2001)

Deve-se ter em mente que algumas exigências técnicas podem excluir-se mutuamente, como por exemplo, o aumento da energia na aquisição e a diminuição do tamanho do ponto focal para uma melhor resolução espacial. (SALMON *et al.*, 2003), já que as boas escolhas dos parâmetros de aquisição, auxiliam nos processos seguintes, como a reconstrução e o pós-processamento (utilização de filtros e no processo de segmentação). Dentre os fatores de qualidade de imagem estudados na seção de fundamentação teórica, o contraste e o ruído estão matematicamente ligados, respectivamente à voltagem e à resistência fornecida ao gerador de raios-X, em outras palavras, à escolha da configuração da energia do feixe.

O contraste se refere à diferença entre claro ou escuro na imagem do objeto de análise comparado ao *background* (fundo). É a diferença em tons de cinza que distinguem diferentes objetos, sendo que quanto maior esta diferença, mais fácil a distinção entre os objetos ou tecidos. Também chamado de resolução em densidade, define a menor diferença no coeficiente de atenuação de massa que o sistema de microCT é capaz de detectar (CHAOUKI *et. al*, 1997). A atenuação do fóton, ou seja, o seu coeficiente de atenuação de massa, está intimamente ligado à energia do feixe de raios X, sendo um dos mais importantes fatores que controlam o contraste radiográfico. O valor do coeficiente de atenuação normalmente diminui de acordo com o aumento da energia do raio, havendo aumento do contraste em energias menores.

Na imagem final, ele consiste na grafia da diferença da fluência de fótons entre duas regiões adjacentes de uma imagem. Esta diferença entre o número de raios X que saem de regiões adjacentes reflete a diferença entre números atômicos, densidades físicas, densidade de elétrons e espectro de energia da fonte. A energia da fonte é a única que não é característica do objeto.

Embora não seja tratado como um artefato, o ruído é um fator de deterioração da imagem (PAUWELS, 2015) e a consciência da influência deste na qualidade dos resultados, sejam eles qualitativos ou quantitativos, deve sempre ser levada em consideração na seleção dos melhores parâmetros de aquisição. É possível otimizar a qualidade da imagem, diminuindo o número ou, em alguns casos, fazendo com que não haja necessidade de pós-processamento. (BRUKER, 2018)

Na literatura endodôntica, não há um protocolo bem estabelecido para a seleção de valores de energia de raios-X para a aquisição de imagens de um dente usando microCT. Alguns autores relataram valores de energia variando de 70-120 kV e 114-82 μ A e a configuração mais utilizada é a combinação de 70 kV e 114 μ A . e 100 kV e 100 μ A, para potências de 8 e 10 watts respectivamente (PAQUÉ *et. al.*, 2009; ROBINSON *et. al.*, 2012; BERGMANS *et. al.*, 2001; PAQUÉ *et. al.*, 2011; PAQUÉ *et. al.*, 2012; DE-DEUS *et. al.*, 2014). Entretanto, em revisão de literatura viu-se que a escolha desta energia, intimamente ligada ao contraste, nunca foi debatida ou justificada.

Desta forma, o objetivo deste trabalho de otimização é maximizar o contraste entre as estruturas de interesse e, ao mesmo tempo, minimizar a influência do ruído na análise da imagem final, tanto qualitativa quanto quantitativa. As aquisições foram realizadas em três diferentes tomógrafos variando-se os arranjos energéticos (relação kV/ μ A) porém, utilizando a mesma potência energética, a fim de determinar a melhor configuração técnica e sua influência na qualidade final da imagem. A hipótese testada é a de que não há mudanças qualitativas e quantitativas, significativas em um mesmo espécime quando se utilizam diferentes parâmetros energéticos de aquisição.

4.2.1 Materiais e Métodos

Para este estudo foi utilizada a amostra padrão desta tese, e a aquisição ocorreu utilizando dezessete parâmetros diferentes (relação kV/ μ A) distribuídos em três diferentes potências de raios-X. Foi possível comparar os mesmos parâmetros em dois tomógrafos diferentes: Skyscan 1172 and Skyscan 1173, utilizando 8 watts e Skyscan 1172 utilizando 10 watts, e Nanotom, 15 Watts. As diferentes configurações energéticas para as aquisições estão expostas na **Tabela 7**:

Tabela 7. Configurações de parâmetros utilizados, onde se variou a relação $kV/\mu A$ na aquisição

8 W				10 W		15 W	
Skyscan 1173 BRUKER		Skyscan 1172 BRUKER		Skyscan 1172 BRUKER		Phoenix NanoTom General Electric - GE	
40 kV	200 μA	40 kV	200 μA	50 kV	200 μA	50 kV	300 μA
50 kV	160 μA	50 kV	160 μA	60 kV	167 μA	60 kV	250 μA
55 kV	145 μA			70 kV	142 μA	70 kV	214 μA
60 kV	133 μA	60 kV	133 μA	80 kV	124 μA	80 kV	188 μA
65 kV	123 μA			90 kV	112 μA	90 kV	167 μA
70 kV	114 μA	70 kV	114 μA	100 kV	100 μA		

Cada configuração de energia mencionada na Tabela 7 forneceu um *dataset* que, primeiramente foi submetido às três opções de filtro (*Sem filtro*, *Unsharp* e *Kuwahara*) para posterior binarização por três algoritmos de segmentação (*Otsu 2D*, *Otsu 3D* e *MM60 = Mean of Min and Max* com *pré-thresholding* de 60-255 e *constant* de -100), sendo esta escolha justificada nos artigos 3 e 4 da presente tese, havendo ao final, 207 *datasets*.

Após isto, foram realizadas as avaliações qualitativa e quantitativa conforme exposto na primeira seção do material e métodos da presente tese.

Os resultados das análises qualitativa e quantitativa foram correlacionados com os valores e resultados estatísticos referentes ao nível de ruído nas projeções tomográficas. Este ruído foi quantificado através da SNR, como exposto na primeira seção do material e métodos da presente tese.

Por não haver normalidade para os valores de SNR, foi utilizado o teste estatístico Kruskal-Wallis (SPSS statistics 21, IBM Corp. Chicago, IL, USA) com nível de significância de 95% seguido por Bonferroni post-hoc e correção de Bonferroni para testes múltiplos.

Por apresentarem normalidade, para os valores de volume do SCR, foi utilizado a análise de variância ANOVA (SPSS statistics 21, IBM Corp. Chicago, IL, USA) com nível de significância de 95% seguido por Tukey HSD post-hoc e correção de Bonferroni para testes múltiplos.

4.2.2 Resultados

4.2.2.1 Avaliação Qualitativa:

Houve perda significativa de estruturas do SCR nas energias de 40 kV em todos os grupo do tomógrafo 1173 e, com energia de 45kV, nos grupos *1173_No_filter* e *1173_Kuwahara*;

Nos grupos *1172_8W*, *1173* e *NanoTom* as melhores imagens foram visualizadas na energia mais baixa, seguindo-se em ordem crescente de energias; enquanto que para o grupo *1172_10W*, a melhor imagem foi na seguinte ordem de energia: 90kV, 80kV, 100kV, 50kV, 60kV, 70kV;

Uma prancha com imagens 2D do modelo 3D, na mesma posição espacial, podem ser visualizadas nas **Figuras: 19**, para o grupo *1172_8W*; **20**, para *1172_10W*; **21 e 22**, *1173*; e, **23**, para o *NanoTom*.

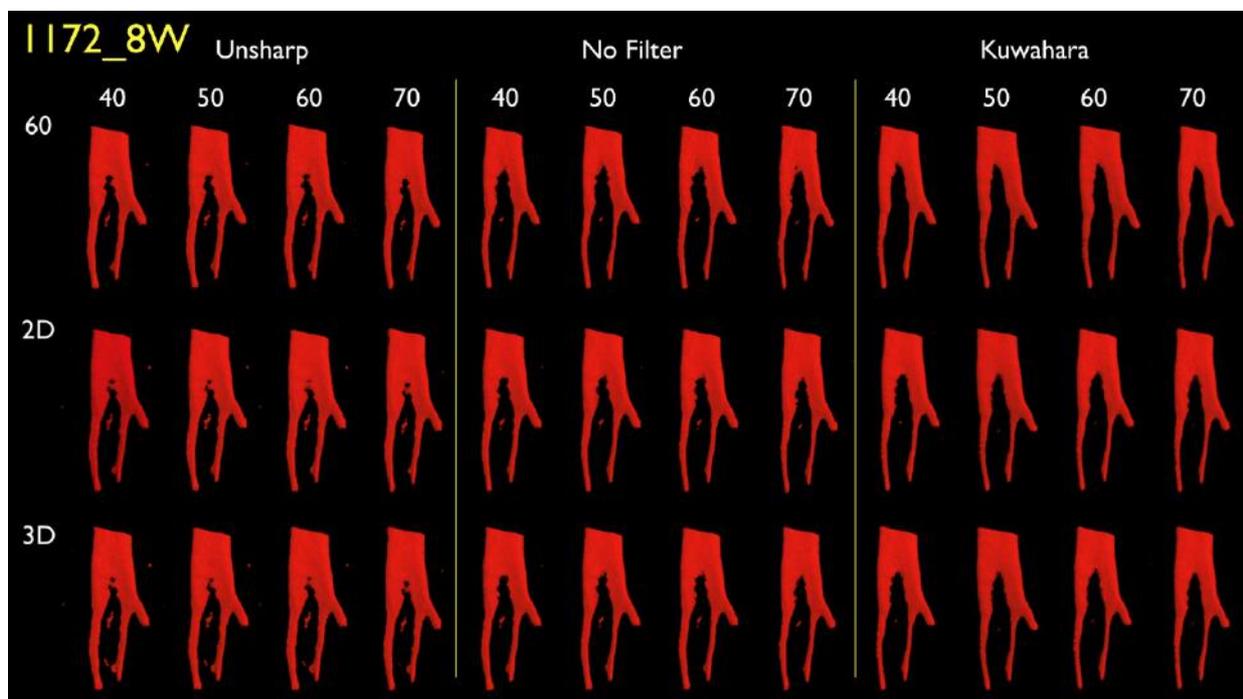


Figura 19. Prancha com imagens 2D do modelo 3D, na mesma posição espacial, para o grupo 1172 utilizando a potência energética de 8 watts

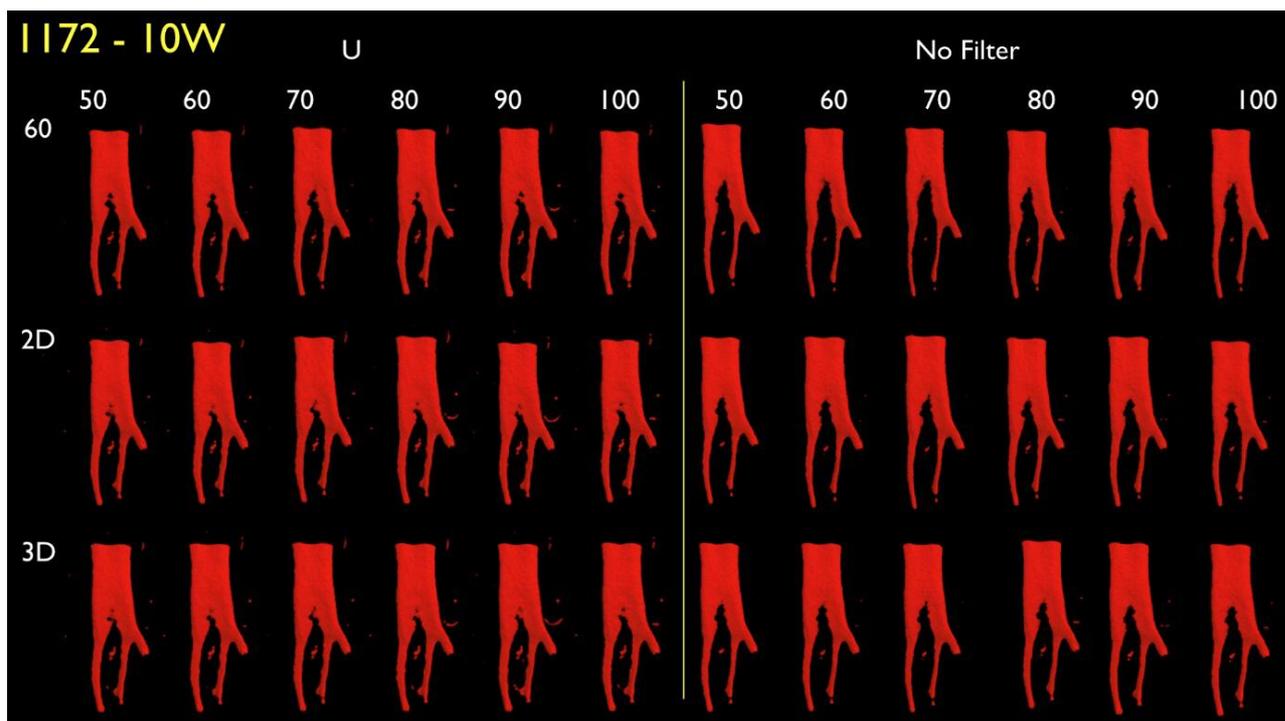


Figura 20. Prancha com imagens 2D do modelo 3D, na mesma posição espacial, para o grupo 1172 utilizando a potência energética de 10 watts

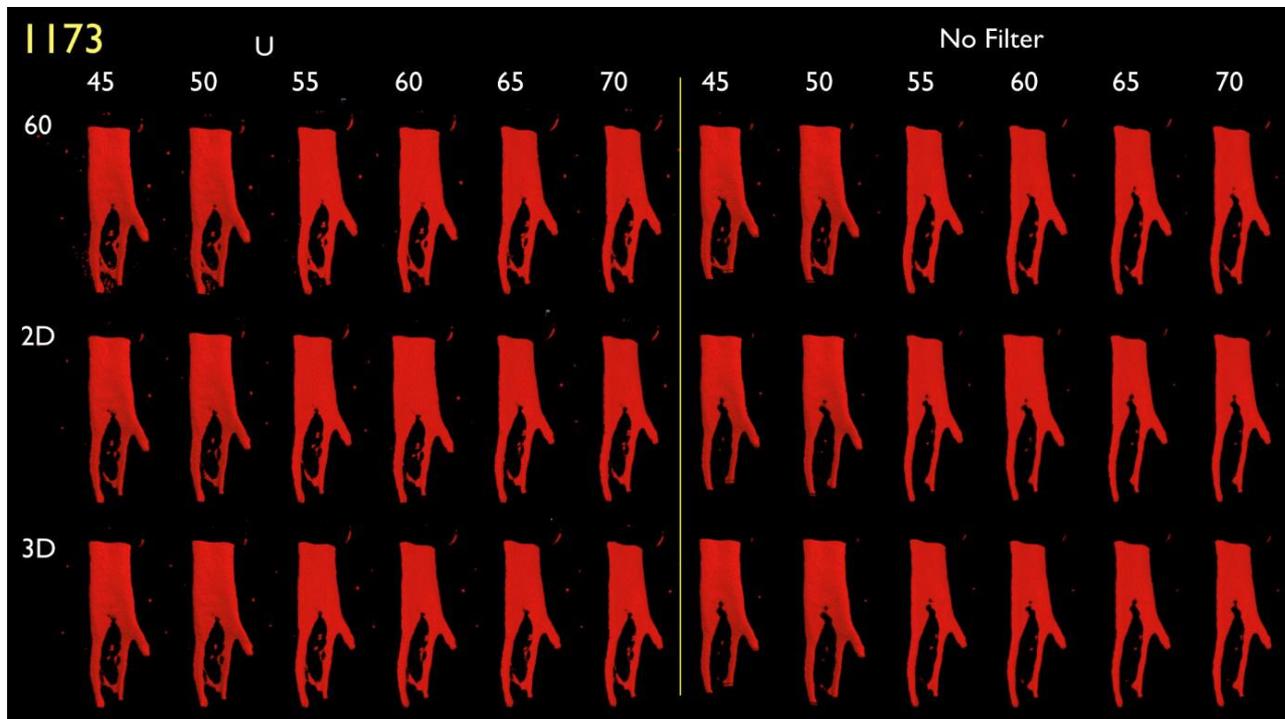


Figura 21. Prancha com imagens 2D do modelo 3D, na mesma posição espacial, para o grupo 1173_Unsharp e 1173_No_filter, utilizando a potência energética de 8 watts

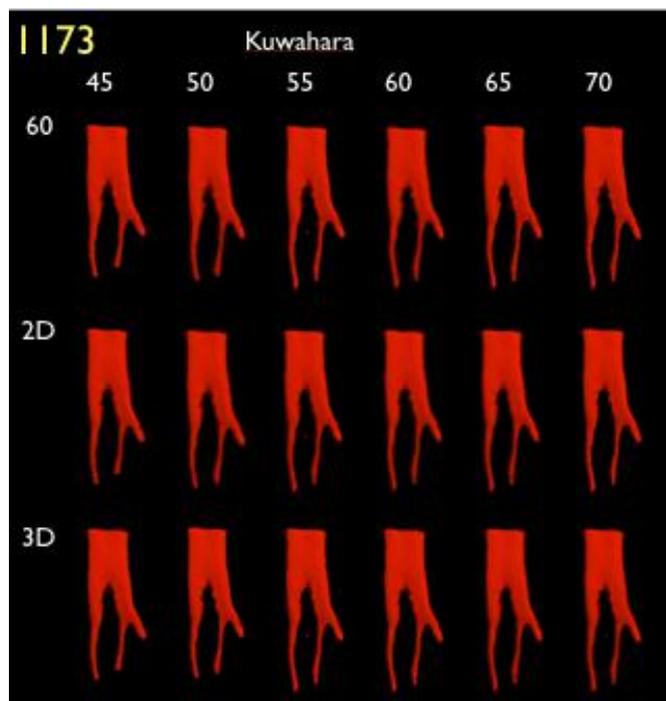


Figura 22. Prancha com imagens 2D do modelo 3D, na mesma posição espacial, para o grupo 1173_ Kuwahara, utilizando a potência energética de 8 watts

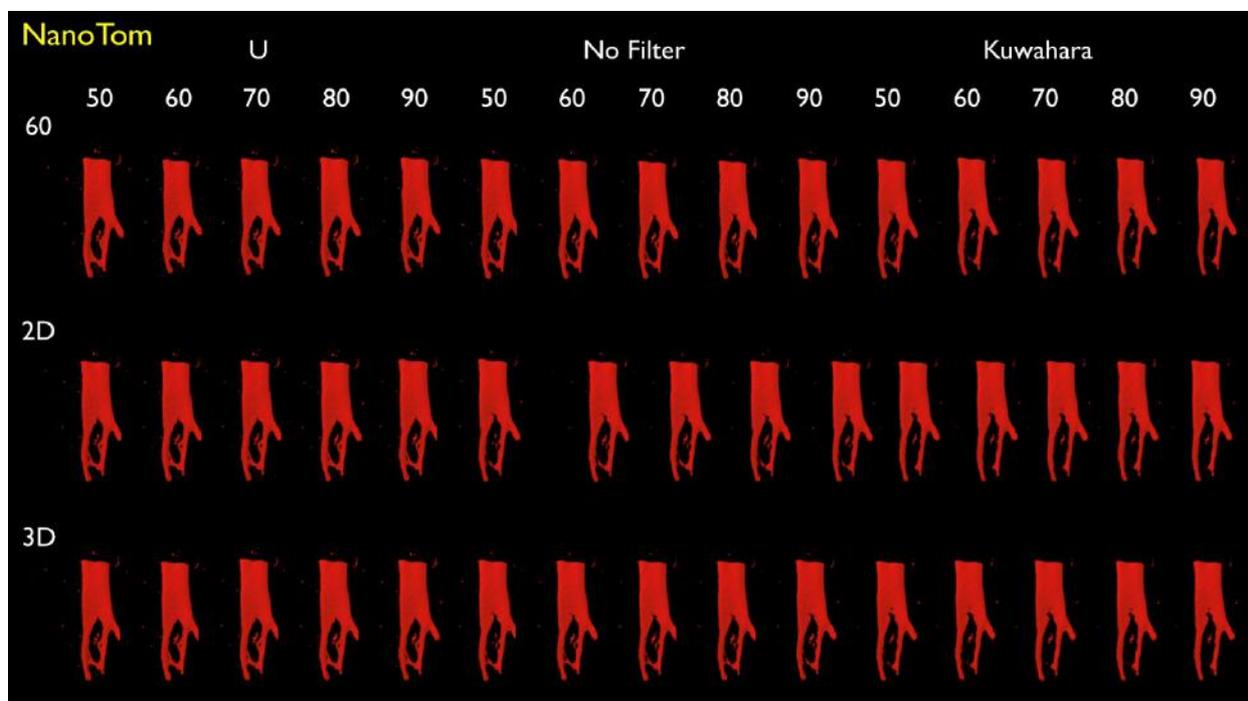


Figura 23. Prancha com imagens 2D do modelo 3D, na mesma posição espacial, para o grupo Nanotom_Unsharp, Nanotom_No_filter e Nanotom_Kuwahara, utilizando a potência energética de 15 watts

As diferenças qualitativas também foram analisadas e verificadas nas fatias bidimensionais, e podem ser exemplificadas nas **Figuras 24, 25 e 26**.

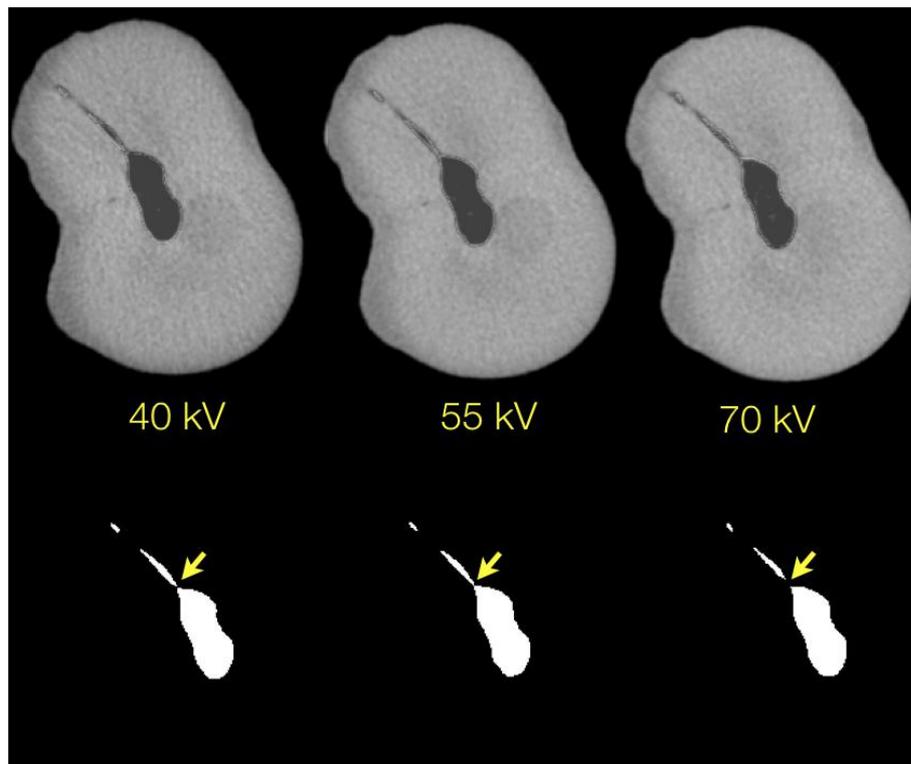


Figura 24. A mesma fatia, em três diferentes energias (40, 55 e 70kV) mostra a conexão e falta de conexão com o canal principal

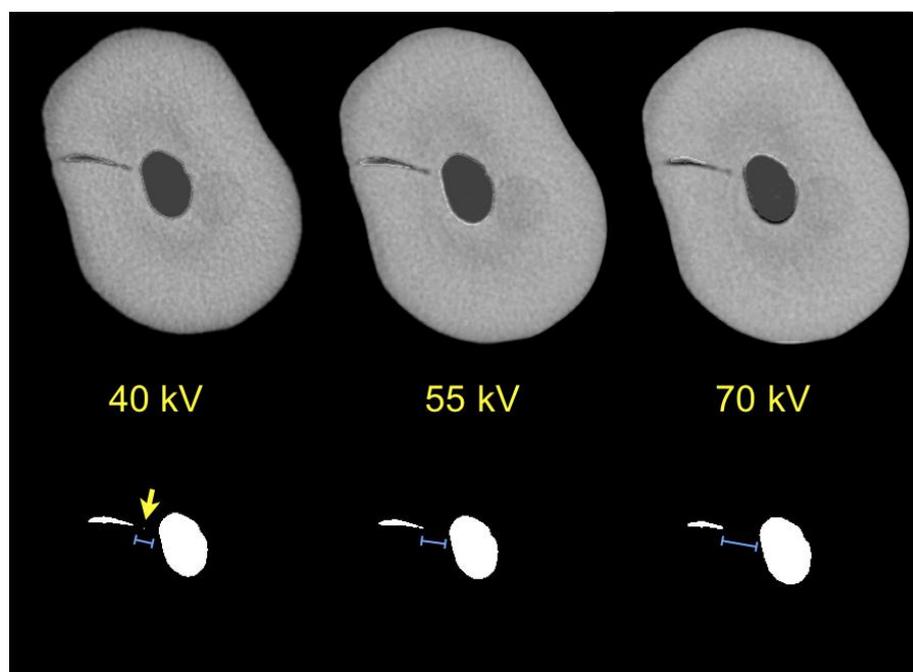


Figura 25. A mesma fatia, em três diferentes energias (40, 55 e 70kV) mostra o aumento da falta de conexão com o canal principal (espessura da dentina)

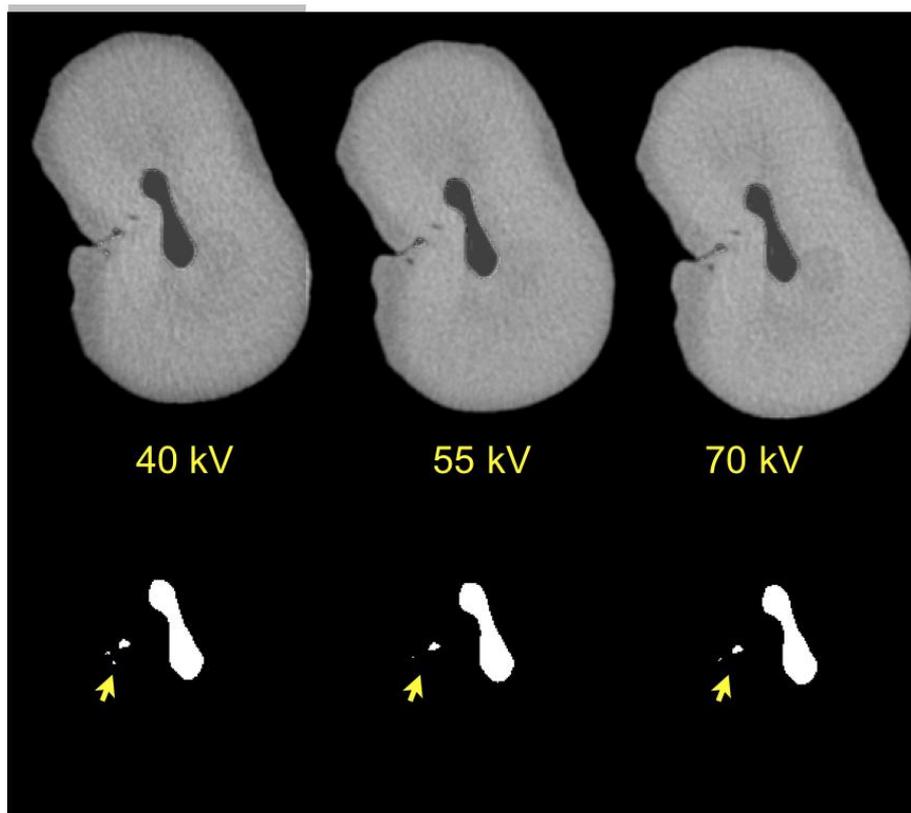


Figura 26. A mesma fatia, em três diferentes energias (40, 55 e 70kV) mostra a não segmentação de um poro em energias maiores

4.2.2.2. Avaliação quantitativa

Houve um pico de aumento de volume nos grupos 1172_8W e 1173_8W, na energia de 70kV, em todos os algoritmos de segmentação e filtros, não acompanhados, entretanto, pelo surgimento de estruturas qualitativas que o justificassem.

Não houve correlação absoluta, devido ao relatado acima, entre o número e características das estruturas visualizadas qualitativamente e o volume final.

A melhor imagem de cada grupo sempre correspondeu à que apresentou o maior volume, assim como as subsequentes em volume decrescente; Foi possível visualizar o aumento do volume quando utilizado o filtro *Unsharp mask* em todos os aparelhos (Figura 27).

Como pode ser visualizado no gráfico 2, houve uma grande diferença positiva na SNR ao se utilizar o NanoTom em 15 Watts. Além disso, percebe-se que os valores onde se viu perda significativa de estruturas do SCR, 40 e 45 kV para o 1173, foram os que apresentaram SNR mais baixos, excetuando estas energias, todos apresentaram valores médios de SNR maiores que 700.

Foi observado um aumento gradual da média de SNR, com diferença estatística significativa entre todas as energias nos tomógrafos 1173 e Nanotom. O mesmo padrão foi observado, em menor escala e sem diferença estatística significativa entre as duas últimas energias, no tomógrafo 1172_8W. Já o 1172_10W apresentou aumento da SNR até a energia de 80kV, havendo decréscimo gradual nas duas energias subsequentes.

Os resultados referentes ao volume do SCR podem ser visualizados na **Tabela 8**, sendo interessante ressaltar que foi possível comparar os mesmos parâmetros em dois tomógrafos diferentes (Skyscan 1172 and Skyscan 1173) utilizando 8 Watts:

Tabela 8. Dezessete parâmetros de aquisição diferentes (relação kV/ μ A) distribuídos em três diferentes potências e tomógrafos de raios-X.

Volume SCR - Comparando diferentes energias										
		KUWAHARA			NO FILTER			UNSHARP		
		MM 60	Otsu 2D	Otsu 3D	MM 60	Otsu 2D	Otsu 3D	MM 60	Otsu 2D	Otsu 3D
1172	40-200	0,22729	0,23035	0,23036	0,19705	0,23384	0,23795	0,23424	0,26229	0,26570
	50-160	0,22277	0,22626	0,22625	0,18644	0,22278	0,22473	0,22668	0,25373	0,25559
	60-134	0,22160	0,22482	0,22483	0,18759	0,21870	0,22244	0,22697	0,25068	0,25234
	70-114	0,24100	0,24548	0,24560	0,19673	0,23339	0,23671	0,24099	0,26943	0,27059
1172	50-200	0,28868	0,29090	0,29118	0,25736	0,28561	0,28768	0,29727	0,31943	0,32180
	60-167	0,28017	0,28626	0,28648	0,22791	0,28027	0,28284	0,27674	0,31447	0,31621
	70-142	0,27553	0,28525	0,28538	0,21729	0,27223	0,27386	0,26897	0,30907	0,31046
	80-124	0,28479	0,28653	0,28687	0,25997	0,28901	0,29087	0,29800	0,32076	0,32266
	90-112	0,28426	0,28547	0,28627	0,26691	0,28461	0,29059	0,30335	0,31669	0,32149
	100-100	0,27937	0,28288	0,28328	0,23854	0,27741	0,27938	0,28270	0,31100	0,31368
1173	40-200	0,27009	0,26913	0,26913	0,33632	0,28181	0,28399	0,35065	0,30723	0,30809
	45-177	0,27673	0,27603	0,27601	0,33967	0,29345	0,29638	0,35667	0,32134	0,32290
	50-160	0,27640	0,27569	0,27566	0,34041	0,29331	0,29586	0,35403	0,32019	0,32303
	55-145	0,27780	0,27726	0,27729	0,33290	0,29530	0,29716	0,34470	0,31885	0,32066
	60-134	0,27648	0,27608	0,27606	0,32338	0,29396	0,29486	0,33745	0,31799	0,32061
	65-123	0,27562	0,27523	0,27525	0,31677	0,29287	0,29429	0,33187	0,31681	0,31781
	70-114	0,28113	0,28087	0,28085	0,32294	0,29929	0,30087	0,33809	0,32313	0,32411
NanoTom	50-300	0,31767	0,31618	0,31635	0,34164	0,31260	0,31526	0,34400	0,32334	0,32507
	60-250	0,31549	0,31508	0,31524	0,32397	0,31186	0,31409	0,33015	0,32207	0,32326
	70-214	0,31662	0,31627	0,31638	0,32376	0,31188	0,31362	0,33025	0,32263	0,32325
	80-188	0,31723	0,31707	0,31719	0,31482	0,31172	0,31321	0,32440	0,32286	0,32332
	90-167	0,31799	0,31778	0,31787	0,31558	0,31109	0,31221	0,32535	0,32277	0,32304
	100-100	0,31851	0,31834	0,31844	0,31336	0,31066	0,31167	0,32390	0,32248	0,32269



Figura 27. Valores de volume do SCR referentes as diferentes relações $kV/\mu A$ em cores distribuídos entre os tipos de filtros e algoritmos de segmentação utilizados.

Gráfico 1. Média da SNR nas quatro diferentes potências:

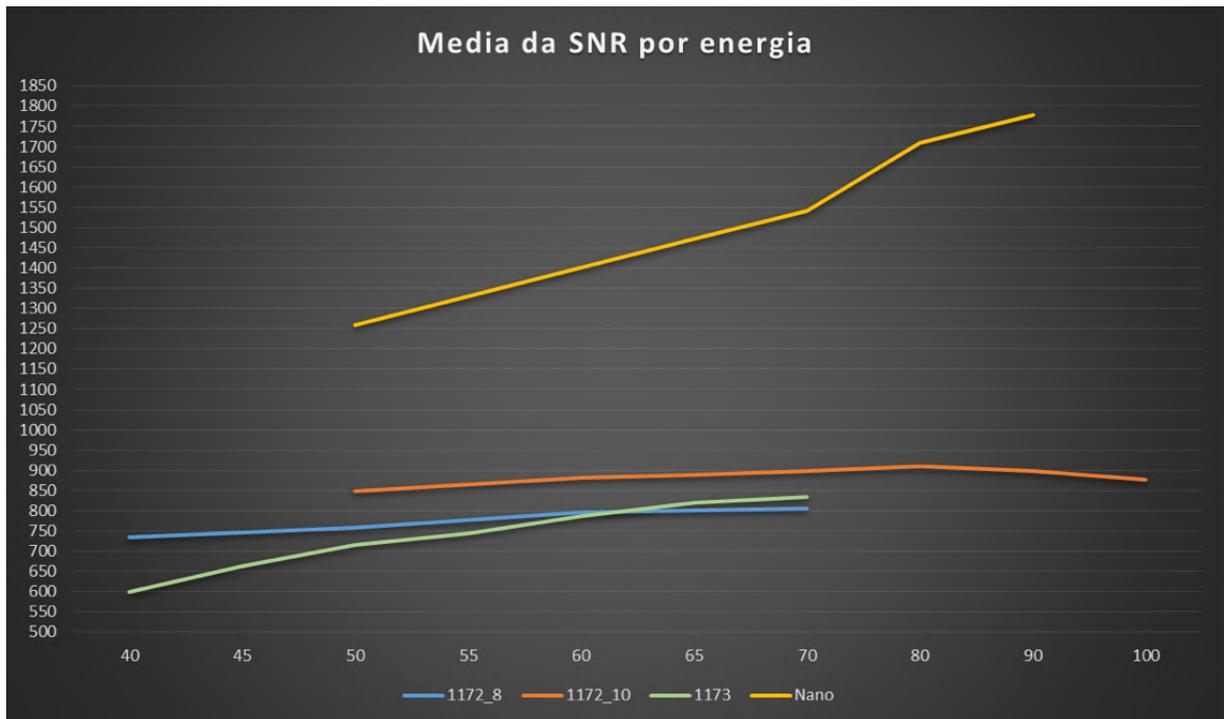
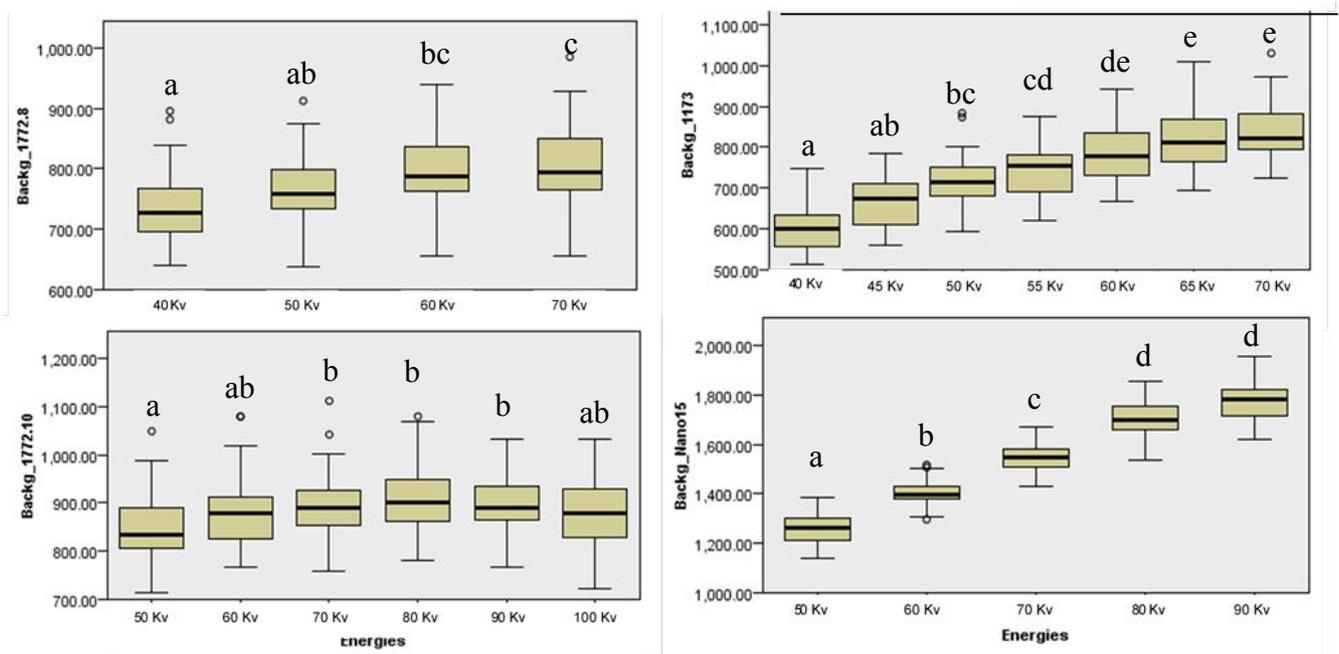


Gráfico 2. Análise estatística mostrando diferenças significativas ao se aumentar a tensão do feixe e, certa tendência a não haver mais diferença entre as maiores energias (como visto no 1172_10W, 1173 e NanoTom):



4.3 Artigo 3: O uso de filtros no processamento da imagem tomográfica e sua influência na visualização e quantificação de estruturas do SCR.

A aquisição de imagens de ótima qualidade é desejada, entretanto, mesmo com cuidadosa seleção dos parâmetros de aquisição e reconstrução um certo grau de ruído é sempre esperado. Isto ocorre por diversos motivos, desde o objeto de análise às características do tomógrafo utilizado. Mesmo que em muitos casos isso não necessariamente seja um problema, em outros, pode tornar as análises impraticáveis e a redução deste ruído por utilização de filtros pode gerar ganhos e facilitar a análise da imagem. Isto influenciaria diretamente a qualidade dos resultados qualitativos ou quantitativos, com a redução de resultados falso-positivos e falso negativos (BRUKER, 2018).

Teoricamente, o filtro perfeito removeria somente ruído e não informação, prevenindo a perda de definição da borda causada pela destruição da linha de contraste entre o objeto e o *background*. Em geral, o papel dos vários tipos de processamento de imagens é reduzir ou, até mesmo, remover uma parte do conteúdo da imagem, a fim de que outros conteúdos sejam melhor visualizados e mensurados. Entretanto, é importante reiterar que o processamento de imagens não deve nunca adicionar informações à imagem. Mesmo que os processos de pós-processamento inerentemente alterem a imagem e possibilitem imprecisões, independente do algoritmo que seja usado, é possível otimizar, em alguns casos, a qualidade da imagem e diminuir o número ou fazer com que não haja necessidade de operações morfológicas (BRUKER, 2018).

Todos os filtros têm suas vantagens, porém, dependendo do objeto e objetivo de análise, podem melhorar ou piorar o resultado do passo posterior, ou seja, da segmentação ou *thresholding*. A definição do melhor filtro, normalmente, se dá por tentativa e erro após o estudo e definição do objetivo: podendo este trabalhar na suavização do ruído, no aumento de contraste ou em uma equalização entre estes.

A combinação de filtros também pode ser utilizada e, em alguns casos, com benefícios que se sobrepõem ao tempo investido (BRUKER, 2018). Deve-se ter em mente que entres os aspectos negativos da utilização dos filtros incluem-se desde a necessidade de tempo e computadores de alto poder de processamento de dados até a perda de resolução espacial.

O objetivo deste trabalho foi definir o melhor filtro para trabalhos em Endodontia, assim como avaliar a influência destes diferentes algoritmos de filtragem (filtros) em dentes. Os filtros selecionados e utilizados são bem estabelecidos na literatura, não

somente a endodôntica, e estão disponíveis no programa de análise CTAn v.1.18.4.0 (Bruker microCT, Bélgica). A hipótese testada é de que não há mudanças qualitativas e quantitativas significativas com o uso de filtros.

4.3.1 Materiais e Métodos

Todos os *datasets* (imagem bruta) utilizados no "artigo 2" da presente tese foram submetidos a três diferentes filtros (*Unsharp Mask*, *Kuwahara* e *Anisotropic Diffusion*) ou a quatro combinações de filtros (*Unsharp+Kuwahara*, *Unsharp+Anisotropic*, *Kuwahara+Unsharp* e *Anisotropic+Unsharp*). No total, tinham-se 8 grupos de *datasets* por energia ao se somar o *dataset* sem a utilização de filtros (grupo *No_filter*), como visto na **Figura 28**:

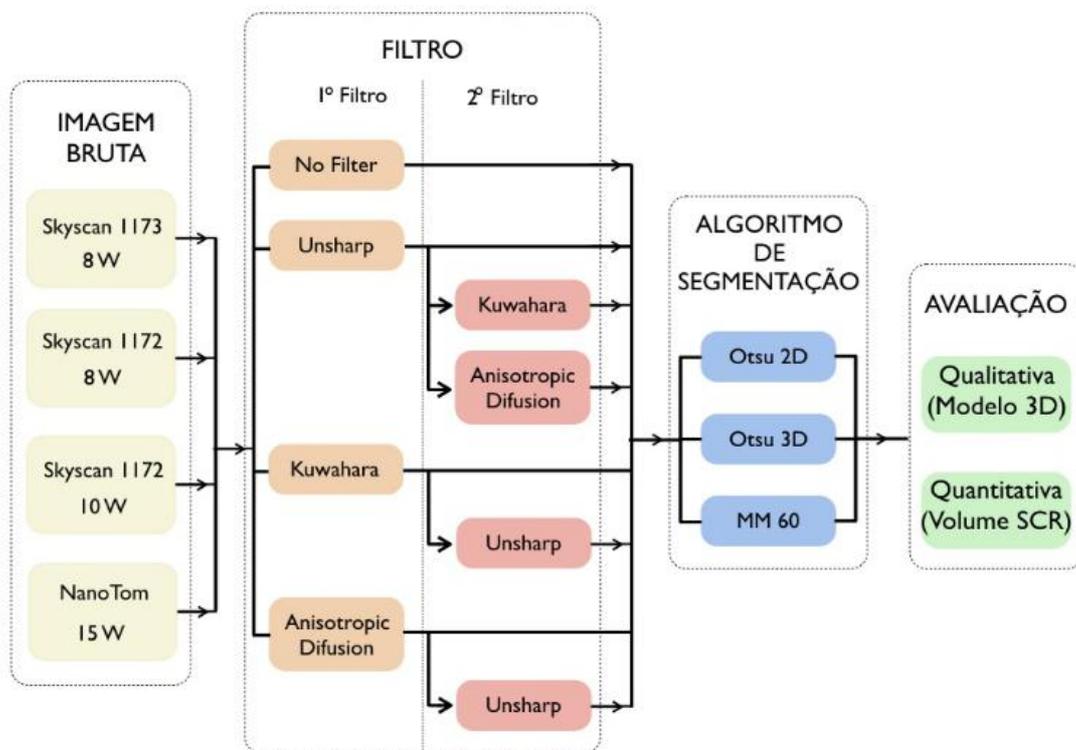


Figura 28. Visão geral do M&M do artigo 2.

Após a filtragem, os oito *datasets* foram submetidos a três diferentes algoritmos de segmentação (*Otsu 2D*, *Otsu 3D* e *Mean of Min and Max* com *pré-thresholding* de 60-255 e *constant* de -100), e analisados tanto quantitativa quanto qualitativamente. Para facilitação da leitura, o algoritmo *Mean of Min and Max* com *pré-thresholding* de 60-255 e *constant* de -100, será chamado de "MM60". A escolha destes algoritmos de segmentação será justificada no artigo 4 da presente tese, como explicado na seção de materiais e métodos.

Desta forma, cada grupo de filtros apresentou a quantidade de *datasets* abaixo, dividida por aparelho:

- 1172_8W: quatro diferentes energias em três diferentes algoritmos de segmentação totalizando 12 valores;
- 1172_10W: seis diferentes energias em três diferentes algoritmos de segmentação totalizando 18 valores;
- 1173_8W: sete diferentes energias em três diferentes algoritmos de segmentação totalizando 21 valores;
- NanoTom_15W: cinco diferentes energias em três diferentes algoritmos de segmentação totalizando 15 valores.

4.3.2 Resultados

4.3.2.1 Avaliação Qualitativa

- As melhores imagens em todos os quatro grupos de tomógrafos/parâmetros foram verificadas com a utilização do filtro *Unsharp*, seguido de "*No_filter*" e *Kuwahara* respectivamente;

- As imagens do grupo Aniso apresentaram perdas significativas do SCR como visto na **Figura 28**;

- Nos tomógrafos 1173 e NanoTom, as melhores imagens foram dos grupos *MM_60*, seguido por *Otsu_3D* e *Otsu_2D*, respectivamente;

- No tomógrafo 1172, as melhores imagens foram dos grupos *Otsu_3D*, seguido por *Otsu_2D* e *MM_60*, respectivamente;

- Os grupos *Otsu_3D* apresentaram melhores imagens em todos os tomógrafos em comparação com *Otsu_2D* (espaço 3D em comparação com o espaço 2D);

4.3.2.2 Avaliação Quantitativa

Houve diferença significativa no aumento do volume do SCR quando se utilizou o filtro *Unsharp mask*, somente ou como primeiro filtro em uso combinado, em todos os tomógrafos, com uma única exceção: em combinação com o *Anisotropic diffusion*, este sendo o segundo, no grupo Nanotom.



Figura 29. Prancha com imagens 2D do modelo 3D, na mesma posição espacial, para o grupo 1172_8W, em todos os filtros utilizados.

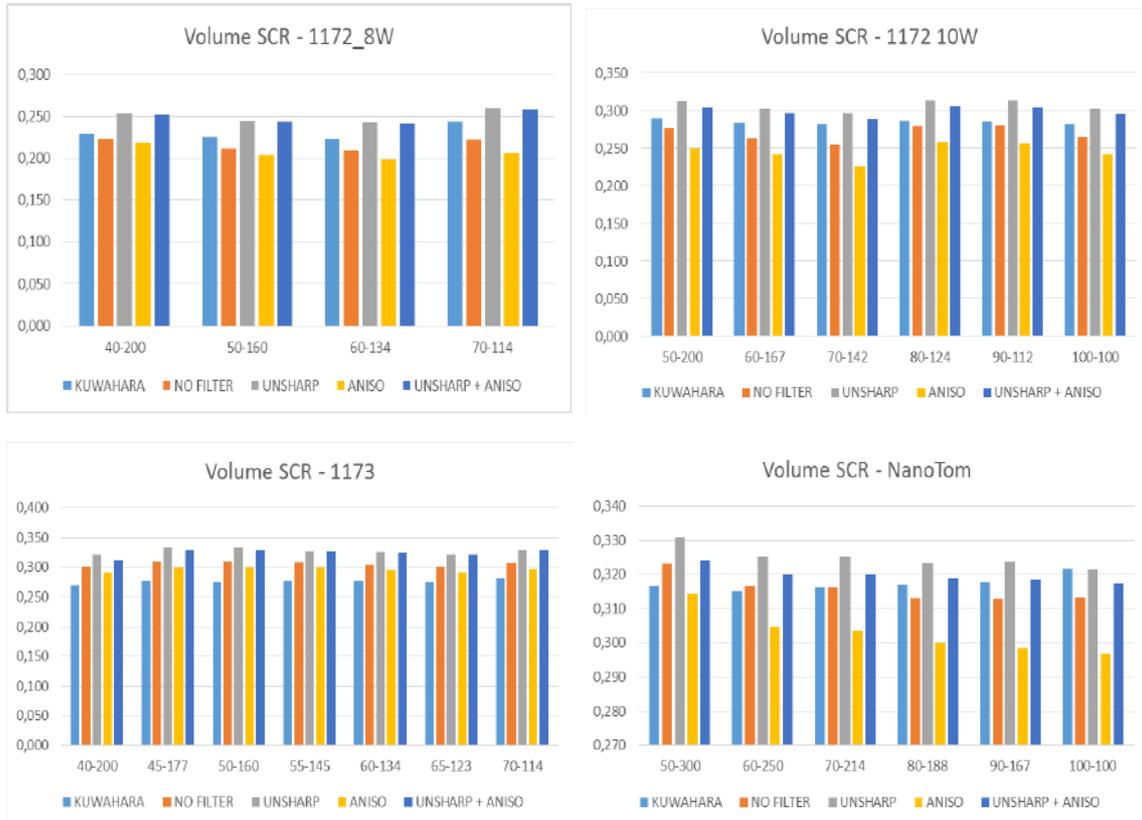
Nota-se a perda de estruturas quando se utilizou o filtro Anisotropic diffusion associado a uma diferença significativa na diminuição do volume do SCR, somente ou como primeiro filtro em uso combinado, em todos os tomógrafos, com uma única exceção: quando comparado ao grupo que não se utilizou de filtro, no grupo 1172_8W.

A média dos valores do volume do SCR para cada algoritmo e filtro, acompanhados pelo desvio padrão podem ser visualizados na **Tabela 9**:

Tabela 9. Média do volume do SCR, acompanhado pelo desvio padrão, dos quatro diferentes grupos de datasets vindos de três diferentes microtomógrafos, submetidos a oito diferentes filtros e combinações de filtros. Para facilitar a visualização, os valores de desvio padrão foram divididos em faixas por cores: Abaixo de 0,00200 - azul; de 0,00201 a 0,00400 - verde; de 0,00401 a 0,00600 - branco; de 0,00601 a 0,00800 - amarelo; de 0,00801 a 0,01000 - laranja; acima de 0,01000 - vermelho

Volume SCR - Comparando diferentes FILTROS																	
	KUWAHARA				NO FILTER				UNSHARP				ANISO				
	Min max 3D 60 5 -100	Otsu 2D	Otsu 3D		Min max 3D 60 5 -100	Otsu 2D	Otsu 3D		Min max 3D 60 5 -100	Otsu 2D	Otsu 3D		Min max 3D 60 5 -100	Otsu 2D	Otsu 3D		
1172 8W	Média	0,22816	0,23173	0,23176	0,19195	0,22718	0,23046		0,23222	0,25903	0,26105		0,17905	0,21897	0,22278		
	Desv. P	0,00890	0,00946	0,00952	0,00572	0,00762	0,00801		0,00681	0,00850	0,00853		0,00876	0,00837	0,00867		
1172 10W	Média	0,28213	0,28621	0,28658	0,24466	0,28152	0,28420		0,28784	0,31524	0,31772		0,21840	0,25743	0,26208		
	Desv. P	0,00468	0,00264	0,00259	0,01979	0,00612	0,00677		0,01370	0,00462	0,00503		0,02354	0,00682	0,00700		
1173 8W	Média	0,27632	0,27576	0,27575	0,33034	0,29286	0,29477		0,34478	0,31793	0,31960		0,33283	0,27673	0,27942		
	Desv. P	0,00329	0,00348	0,00348	0,00929	0,00534	0,00521		0,00937	0,00517	0,00549		0,01445	0,00700	0,00766		
NanoTom	Média	0,31725	0,31679	0,31691	0,32219	0,31163	0,31334		0,32968	0,32269	0,32344		0,31331	0,29695	0,29881		
	Desv. P	0,00108	0,00118	0,00116	0,01058	0,00068	0,00130		0,00756	0,00042	0,00083		0,01524	0,00188	0,00237		
		UNSHARP + ANISO				UNSHARP + KUWAHARA				ANISO + UNSHARP				KUWAHARA + UNSHARP			
		Min max 3D 60 5 -100	Otsu 2D	Otsu 3D	Min max 3D 60 5 -100	Otsu 2D	Otsu 3D		Min max 3D 60 5 -100	Otsu 2D	Otsu 3D		Min max 3D 60 5 -100	Otsu 2D	Otsu 3D		
1172 8W	Média	0,23378	0,25607	0,25807	0,23222	0,25910	0,26105		0,17905	0,21896	0,22278		0,22816	0,23173	0,23176		
	Desv. P	0,00652	0,00832	0,00848	0,00681	0,00851	0,00853		0,00876	0,00836	0,00867		0,00890	0,00946	0,00952		
1172 10W	Média	0,28482	0,30538	0,30751	0,28763	0,31514	0,31760		0,21841	0,25718	0,26210		0,28213	0,28621	0,28658		
	Desv. P	0,01225	0,00428	0,00449	0,01355	0,00453	0,00503		0,02354	0,00673	0,00702		0,00468	0,00264	0,00259		
1173 8W	Média	0,34127	0,31511	0,31640	0,34449	0,31720	0,31935		0,33483	0,27568	0,27943		0,27995	0,27921	0,27922		
	Desv. P	0,00733	0,00837	0,00848	0,00923	0,00576	0,00586		0,01660	0,00639	0,00651		0,00342	0,00298	0,00297		
NanoTom	Média	0,32558	0,31632	0,31771	0,32966	0,32273	0,32343		0,31337	0,29660	0,29884		0,31730	0,31684	0,31696		
	Desv. P	0,00853	0,00111	0,00056	0,00756	0,00042	0,00084		0,01537	0,00181	0,00243		0,00111	0,00116	0,00114		

Gráfico 3. Os volumes de SCR apresentados na Tabela 9 plotados em gráficos de barra. Nota-se que a utilização do Unsharp sempre foi acompanhada pelo ganho de volume.



Os valores do desvio padrão para filtro foram plotados e podem ser visualizado no **Figura 30**:

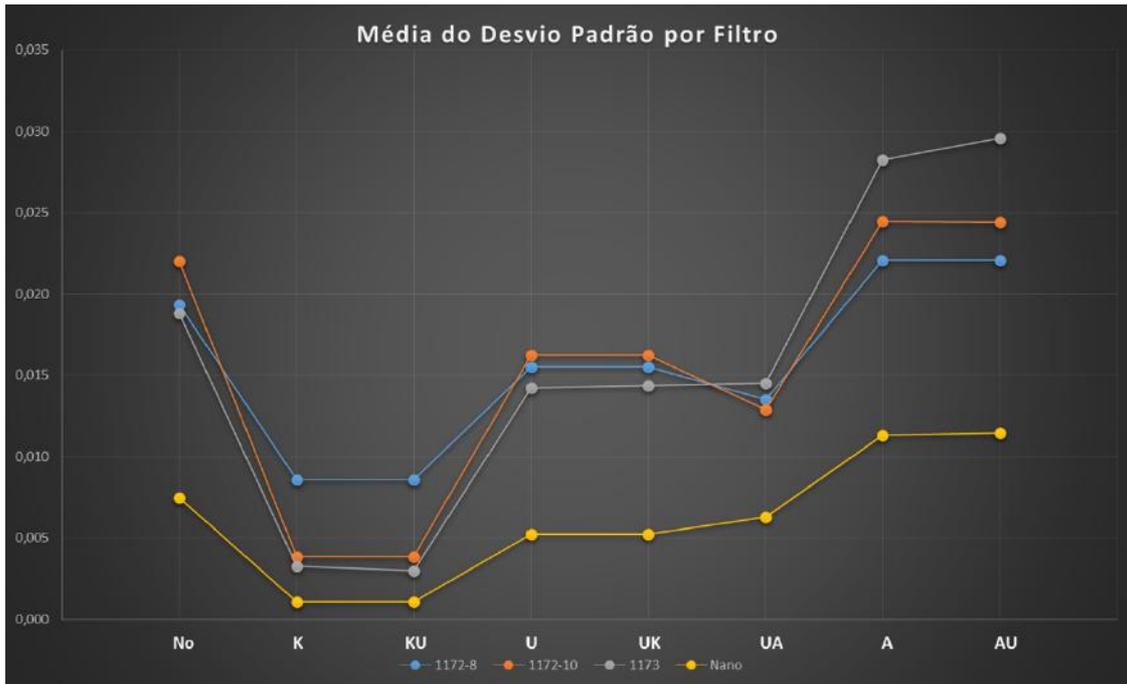


Figura 30. Valores de desvio padrão por equipamento (cores), separado por filtros

Com ajuda da **Figura 30** vê-se que, em todos os tomógrafos, o uso dos filtros *Kuwahara* e *Unsharp* levaram a uma diminuição do desvio padrão em relação ao *dataset* bruto (grupo *No_filter*). Já o filtro *Anisotropic diffusion* acarretou em um aumento nos valores do desvio padrão.

Os resultados das análises estatísticas podem ser visualizados nos gráficos abaixo:

Gráfico 4. Análise estatística dos valores relativos ao volume do SCR, distribuído por filtro/combinacao de filtros, no grupo 1172_8W:

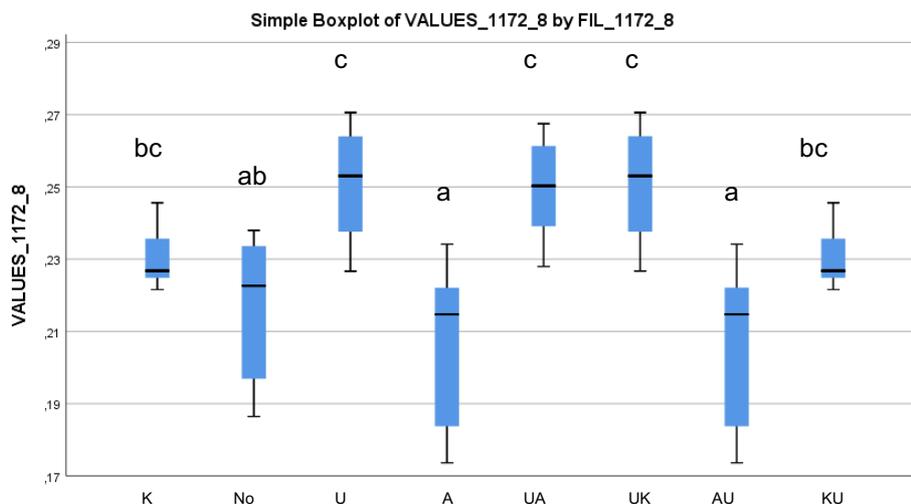


Gráfico 5. Análise estatística dos valores relativos ao volume do SCR, distribuído por filtro/combinacao de filtros, no grupo 1172_10W:

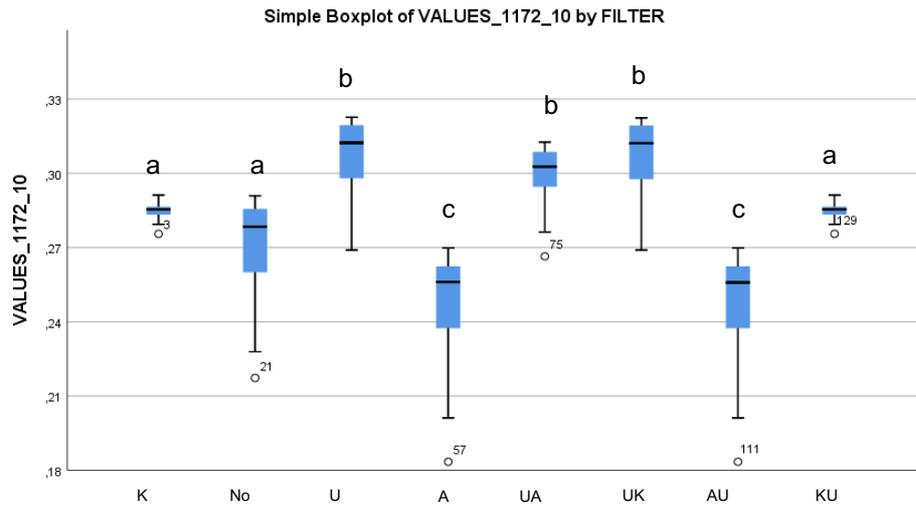


Gráfico 6. Análise estatística dos valores relativos ao volume do SCR, distribuído por filtro/combinacao de filtros, no grupo 1173:

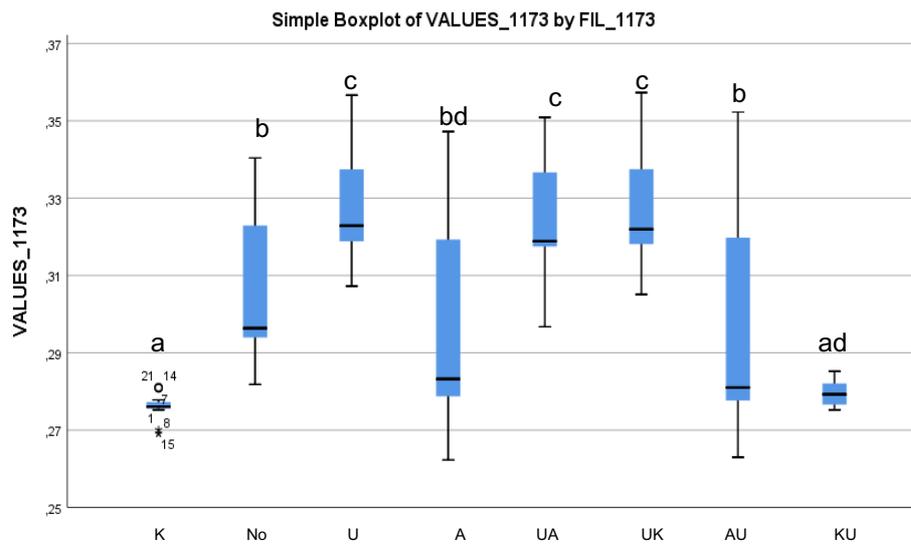
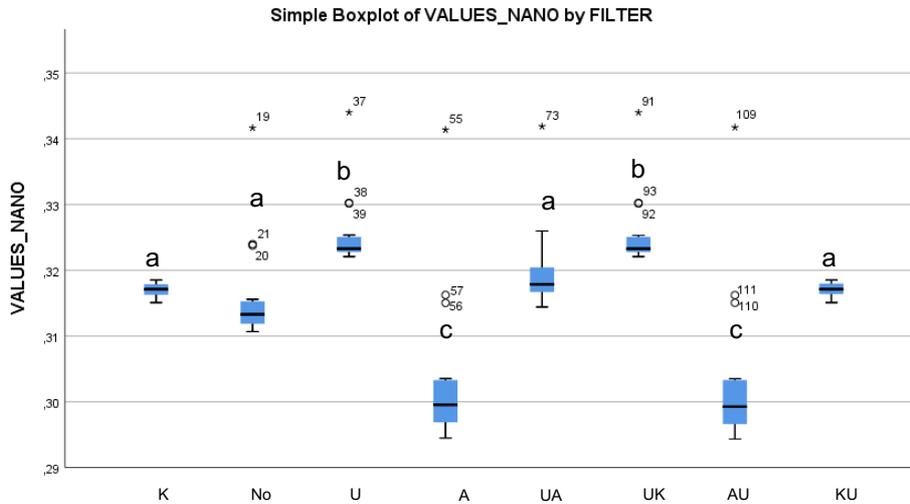
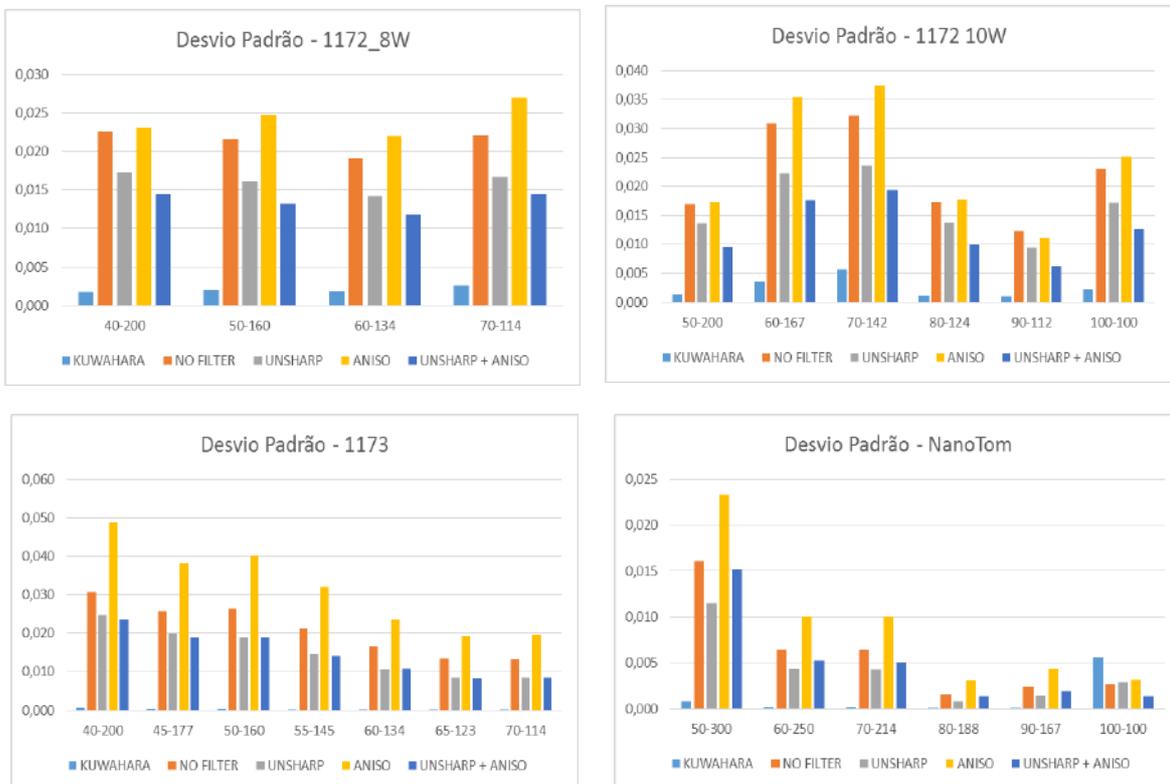


Gráfico 7. Análise estatística dos valores relativos ao volume do SCR, distribuido por filtro/combinacao de filtros, no grupo NanoTom:



Os valores do desvio padrão para filtro foram plotados e podem ser visualizado no gráfico 10:

Gráfico 8. Gráfico em barras, relativas aos valores de desvio padrão apresentados por diferentes filtros/combinacao de filtros, em diferentes energias e aparelhos. Nota-se a diminuição do mesmo ao uso dos filtros Kuwahara e Unsharp mask:



4.4 Artigo 4: Qual o algoritmo de segmentação ideal para trabalhos na Endodontia?

Após a determinação dos parâmetros de aquisição e reconstrução adequados ao que se deseja estudar, um dos maiores desafios no processamento das imagens no microCT é a escolha do ponto de corte no momento da binarização (*thresholding*) das imagens. Basicamente este passo se concentra na definição das bordas, que resultará na extração do objeto de interesse, através da análise dos níveis de cinza que o compõem e da escolha de um nível que o separa (SALES, 2010; RUSS, 2017).

Esta definição do limiar entre os dois grupos de tons de cinza é de suma importância para a correta avaliação do objeto e tem total influência nos cálculos dos parâmetros morfológicos da amostra, sendo responsável pela sub- ou sobre-instrumentação dos parâmetros de quantificação, podendo acarretar em uma caracterização de estruturas não reais (HARA, 2002).

A maior parte dos trabalhos em endodontia utiliza o método visual na definição de bordas entre dente-vazio, dente-material obturador e dente-*smear-layer* (BERGMANS *et al.*, 2001; ROBINSON *et al.*, 2012; PAQUÉ *et al.*, 2011; 2012). Entretanto, esta metodologia é amplamente criticada em diversas aplicações de microCT pois é baseada, principalmente, na experiência do operador, sendo sujeito a uma grande flutuação de erros. É especialmente inadequada quando a relação sinal-ruído é baixa ou quando uma dimensão da estrutura a ser quantificada está no limite da resolução espacial, como por exemplo para canalículos (PEYRIN *et al.*, 2014).

Desta forma, é preferível a utilização de processos matemáticos automatizados para a definição das bordas, evitando o viés do operador nesta definição. Conseqüentemente, diversos algoritmos foram desenvolvidos para automatização da definição deste limiar, a maioria destes utiliza o histograma em seus cálculos e trabalham sobre alguns pressupostos do objeto analisado. (RUSS, 2017). Assim, métodos dedicados de segmentação de imagens precisam ser avaliados nas diferentes aplicações desta metodologia (PEYRIN *et al.*, 2014).

O objetivo deste trabalho é avaliar a atuação dos algoritmos de segmentação automáticos e semiautomáticos na definição da dentina e, conseqüentemente, a separação do SCR. A hipótese testada nesta parte da tese é de que não há mudanças qualitativas e quantitativas significativas com o uso de diferentes algoritmos de segmentação no mesmo espécime e parâmetros de aquisição.

4.4.1 Materiais e Métodos

Por haver uma quantidade razoavelmente grande de algoritmos e parâmetros, como explicado anteriormente nesta tese, trabalhar com todas as possibilidades torna-se impraticável. Desta forma, este artigo foi realizado em duas fases: na primeira, buscou-se selecionar os parâmetros que tornam possível a segmentação do SCR, não importando a qualidade desta segmentação, em um número limitado de *datasets*. Na segunda fase, abordou-se a qualidade dos diferentes algoritmos, em todos os *datasets* do artigo 2, nos diferentes parâmetros. Em ambas as fases foram utilizadas avaliações qualitativas e quantitativas.

4.4.1.1 - 1ª fase:

Três *datasets* (um de cada tomógrafo), sem a utilização de filtros, foram submetidos a basicamente todas as opções de algoritmos de segmentação oferecidos no CTAn (CTAnalyser; versão 1.17.5.0, Bruker, Bélgica), com a exceção do método global, que foi excluído deste estudo por motivo explicitado na fundamentação teórica da presente tese. Desta forma, foram testados em todos os algoritmos automáticos e não-automáticos (todos os diferentes parâmetros foram testados com diferentes valores em cada algoritmo semiautomático) no software CTAn. No total foram gerados 54 grupos de *datasets*.

O objetivo desta fase foi pré-selecionar os algoritmos que apresentavam somente o volume correspondente ao SCR, sem a presença de *speckels* e foi realizada, principalmente, por análise qualitativa dos modelos 3D gerados, relacionando-os a quantificação do volume apresentado, utilizando-se o software CTVox e CTAn, respectivamente.

Uma visão geral desta fase pode ser visualizada na **Figura 31**:

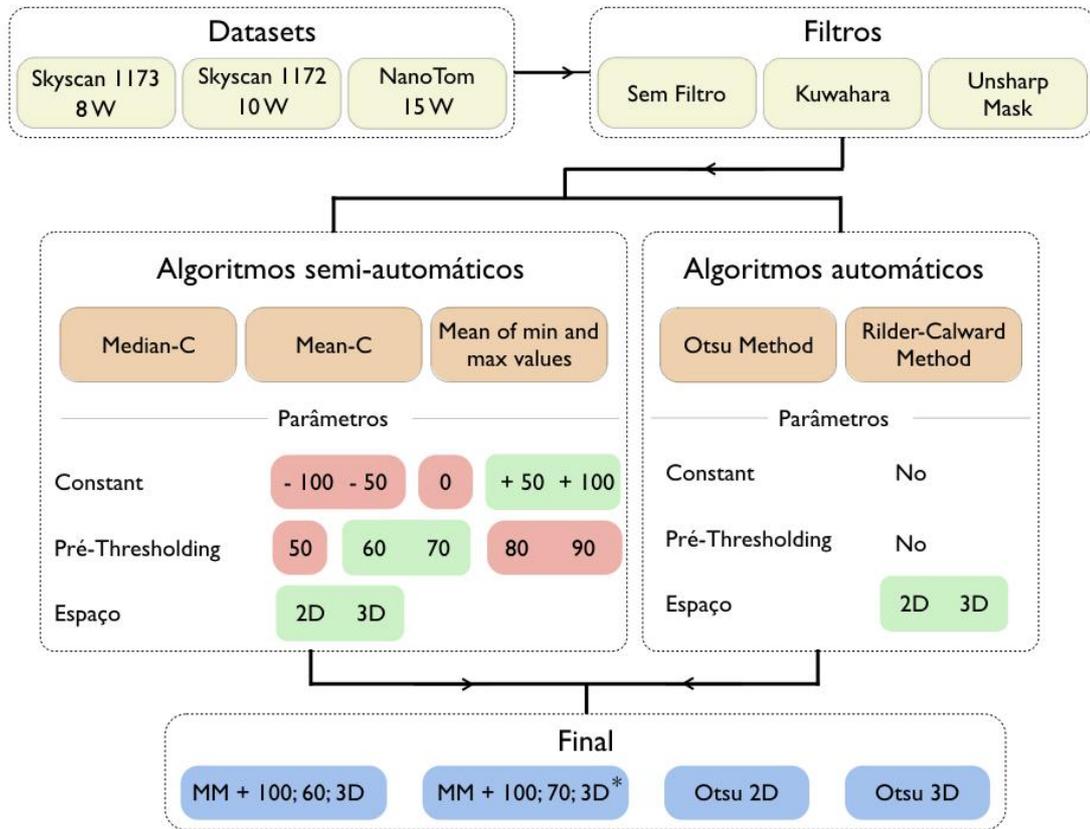


Figura 31. Representação gráfica da abordagem utilizada na seleção dos algoritmos de segmentação, e seus parâmetros, que proporcionam a segmentação do SCR. Em vermelho os parâmetros que não promoveram e em verde, os que promoveram a correta segmentação. Ao final, em azul, os algoritmos e parâmetros utilizados na segunda fase.

4.4.1.2 - 2ª fase

Os *datasets* resultantes da seleção realizada na fase 1 foram submetidos aos quatro algoritmos de segmentação selecionados na fase anterior, como visto na **Figura 31**. Nesta fase, houve a comparação entre *datasets* provenientes de três diferentes equipamentos (1172, 1173 e NanoTom), em diferentes potências e parâmetros energéticos, como abordado no artigo 2 da presente tese. Foram realizadas análises qualitativas e a quantificação do volume do SCR. Os dados quantitativos foram analisados e comparados com a análise qualitativa buscando-se a relação entre o aumento de detalhes qualitativos acompanhados da média do volume total e do desvio padrão.

Desta forma, cada *dataset* utilizado foi submetido às três opções de filtro (*Sem filtro*, *Unsharp* e *Kuwahara*) e, ao final formaram-se doze grupos:

- *1172_8W_Unsharp; 1172_8W_No_filter; 1172_8W_Kuwahara;*
- *1172_10W_Unsharp; 1172_10W_No_filter; 1172_10W_Kuwahara;*
- *1173_Unsharp; 1173_No_filter; 1173_Kuwahara;*
- *NanoTom_Unsharp; NanoTom_No_filter; NanoTom_Kuwahara.*

Em seguida, a binarização foi realizada pelos três algoritmos (*Otsu 2D*, *Otsu 3D* e *Mean of Min and Max* com *pré-thresholding* de 60-255 e *constant* de -100), havendo ao final, 36 grupos por tomógrafo e energia.

4.4.2 Resultados

4.4.2.1 - 1ª fase

Cada modelo 3D gerado por estes diferentes algoritmos e parâmetros foi analisado qualitativamente (CTVox) e relacionado com seu volume, chegando-se às conclusões abaixo, para os três datasets:

Em relação aos algoritmos semiautomáticos:

Não houve diferença no volume entre os diferentes espaços (2D e 3D);

Os valores de *pré-thresholding* excluídos: de 80 e 90 pois geraram “*speckles*” (poros falso-positivos); assim como o valor de 50, que acarretou em perda de estruturas importantes do SCR (poros falso-negativos);

As constantes “negativas” (-50 e -100) foram as que apresentaram segmentações correspondentes ao SCR. Utilizando-se a constante “0” ou “positiva” (+50 e +100), não houve segmentação correta do SCR, excluindo-as;

Não houve diferença entre os valores quando utilizadas constantes negativas;

Não houve diferença de volume entre os métodos semiautomáticos: “*mean*”, “*median*”, e “*mean of min and max*” quando utilizados os mesmos parâmetros.

Em relação aos algoritmos automáticos:

Houve diferença no volume entre os diferentes espaços (2D e 3D);

Os valores de volume foram iguais entre os métodos automáticos “*Otsu*” e “*Rider-Calwary*” quando utilizados no mesmo espaço.

Com base nestes resultados, foram definidos três algoritmos para a segunda fase deste estudo, onde se objetivou a análise de amostragem maior com datasets advindos de diferentes equipamentos e parâmetros, sendo eles:

- “Otsu 2D”; que apresentou o mesmo volume que Rider-Calway 2D;
- “Otsu 3D”; que apresentou o mesmo volume que Rider-calway 3D;
- “Mean of min and máx. ” com os seguintes parâmetros: Pré-thresholding 60 e 70, com Constante -100 e Espaço 2D; que apresentou o mesmo volume que o “Mean” e “median” com constantes negativas, independente do espaço.

4.4.2.2. - 2ª fase

O grupo do algoritmo de segmentação “MM+100;70;3D” foi excluído nesta fase por apresentar alto índice de speckles, Nota-se a grande incidência de speckles na maioria das imagens, tornando algumas inviáveis a análise (em cinza). como visto na **Figura 32**:

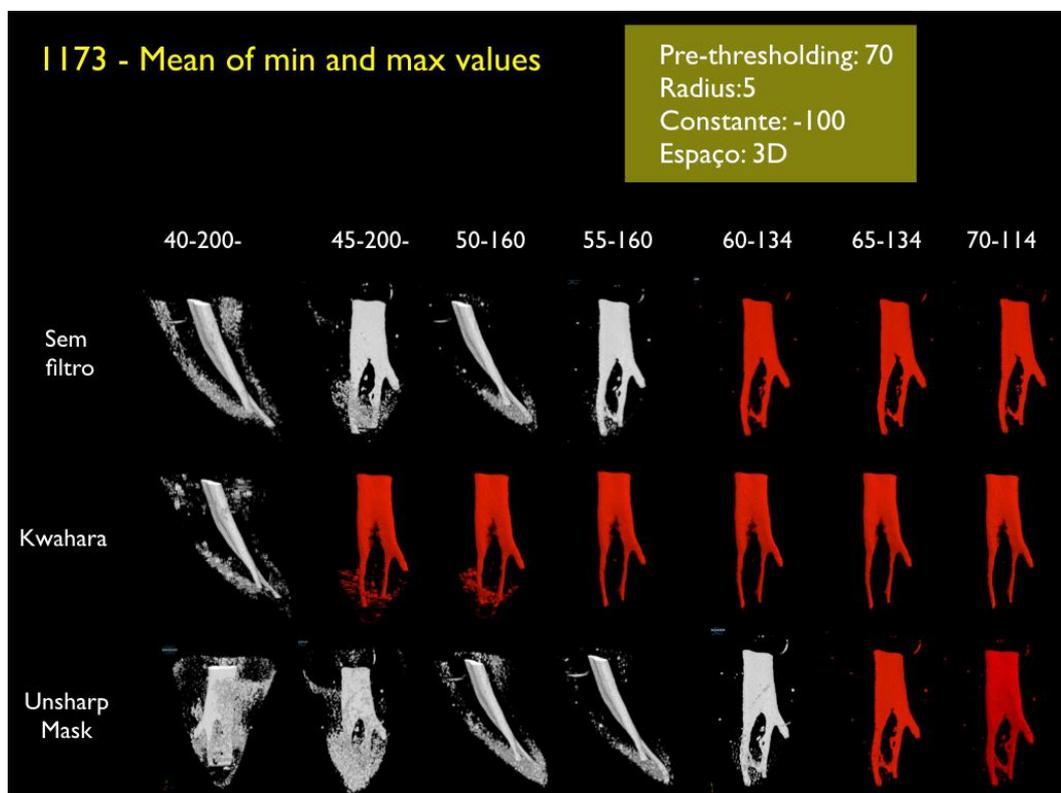


Figura 32. Prancha com imagens bidimensionais de modelos 3D gerados pelo grupo do algoritmo de segmentação “MM+100;70;3D”.

As melhores imagens em todos os quatro grupos de tomógrafos/parâmetros foram verificadas com a utilização do filtro *Unsharp*, seguido de “*No_filter*” e *Kuwahara*, respectivamente;

Nos tomógrafos 1173 e NanoTom, as melhores imagens foram dos grupos *MM_60*, seguido por *Otsu_3D* e *Otsu_2D*, respectivamente;

No tomógrafo 1172, as melhores imagens foram dos grupos *Otsu_3D*, seguido por *Otsu_2D* e *MM_60*, respectivamente;

Os grupos *Otsu_3D* apresentaram melhores imagens em todos os tomógrafos em comparação com *Otsu_2D* (espaço 3D em comparação com o espaço 2D);

A média dos valores do volume do SCR para cada algoritmo e filtro, acompanhados pelo desvio padrão podem ser visualizados na **Tabela 10**:

Tabela 10. *Dezessete parâmetros de aquisição diferentes (relação kV/μA) distribuídos em três diferentes potências de raios-X. Foi possível comparar os mesmos parâmetros em dois tomógrafos diferentes (Skyscan 1172 and Skyscan 1173) utilizando 8 watts. Para facilitar a visualização, os valores de desvio padrão foram divididos em faixas por cores: Abaixo de 0,00200 - azul; de 0,00201 a 0,00400 - verde; de 0,00401 a 0,00600 - branco; de 0,00601 a 0,00800 - amarelo; de 0,00801 a 0,01000 - laranja; acima de 0,01000 - vermelho.*

Volume SCR - Comparando diferentes Algoritmos de Segmentacao										
		KUWAHARA			NO FILTER			UNSHARP		
		MM 60	Otsu 2D	Otsu 3D	MM 60	Otsu 2D	Otsu 3D	MM 60	Otsu 2D	Otsu 3D
1172 8W	40-200	0,22729	0,23035	0,23036	0,19705	0,23384	0,23795	0,23424	0,26229	0,26570
	50-160	0,22277	0,22626	0,22625	0,18644	0,22278	0,22473	0,22668	0,25373	0,25559
	60-134	0,22160	0,22482	0,22483	0,18759	0,21870	0,22244	0,22697	0,25068	0,25234
	70-114	0,24100	0,24548	0,24560	0,19673	0,23339	0,23671	0,24099	0,26943	0,27059
	MEDIA	0,22816	0,23173	0,23176	0,19195	0,22718	0,23046	0,23222	0,25903	0,26105
	Desv, P	0,00890	0,00946	0,00952	0,00572	0,00762	0,00801	0,00681	0,00850	0,00853
1172 10W	50-200	0,28868	0,29090	0,29118	0,25736	0,28561	0,28768	0,29727	0,31943	0,32180
	60-167	0,28017	0,28626	0,28648	0,22791	0,28027	0,28284	0,27674	0,31447	0,31621
	70-142	0,27553	0,28525	0,28538	0,21729	0,27223	0,27386	0,26897	0,30907	0,31046
	80-124	0,28479	0,28653	0,28687	0,25997	0,28901	0,29087	0,29800	0,32076	0,32266
	90-112	0,28426	0,28547	0,28627	0,26691	0,28461	0,29059	0,30335	0,31669	0,32149
	100-100	0,27937	0,28288	0,28328	0,23854	0,27741	0,27938	0,28270	0,31100	0,31368
	MEDIA	0,28213	0,28621	0,28658	0,24466	0,28152	0,28420	0,28784	0,31524	0,31772
	Desv, P	0,00468	0,00264	0,00259	0,01979	0,00612	0,00677	0,01370	0,00462	0,00503
1173	40-200	0,27009	0,26913	0,26913	0,33632	0,28181	0,28399	0,35065	0,30723	0,30809
	45-177	0,27673	0,27603	0,27601	0,33967	0,29345	0,29638	0,35667	0,32134	0,32290
	50-160	0,27640	0,27569	0,27566	0,34041	0,29331	0,29586	0,35403	0,32019	0,32303
	55-145	0,27780	0,27726	0,27729	0,33290	0,29530	0,29716	0,34470	0,31885	0,32066
	60-134	0,27648	0,27608	0,27606	0,32338	0,29396	0,29486	0,33745	0,31799	0,32061
	65-123	0,27562	0,27523	0,27525	0,31677	0,29287	0,29429	0,33187	0,31681	0,31781
	70-114	0,28113	0,28087	0,28085	0,32294	0,29929	0,30087	0,33809	0,32313	0,32411
	MEDIA	0,27632	0,27576	0,27575	0,33034	0,29286	0,29477	0,34478	0,31793	0,31960
	Desv, P	0,00329	0,00348	0,00348	0,00929	0,00534	0,00521	0,00937	0,00517	0,00549
NanoTom	50-300	0,31767	0,31618	0,31635	0,34164	0,31260	0,31526	0,34400	0,32334	0,32507
	60-250	0,31549	0,31508	0,31524	0,32397	0,31186	0,31409	0,33015	0,32207	0,32326
	70-214	0,31662	0,31627	0,31638	0,32376	0,31188	0,31362	0,33025	0,32263	0,32325
	80-188	0,31723	0,31707	0,31719	0,31482	0,31172	0,31321	0,32440	0,32286	0,32332
	90-167	0,31799	0,31778	0,31787	0,31558	0,31109	0,31221	0,32535	0,32277	0,32304
	100-100	0,31851	0,31834	0,31844	0,31336	0,31066	0,31167	0,32390	0,32248	0,32269
	MEDIA	0,31725	0,31679	0,31691	0,32219	0,31163	0,31334	0,32968	0,32269	0,32344
	Desv, P	0,00108	0,00118	0,00116	0,01058	0,00068	0,00130	0,00756	0,00042	0,00083

Os resultados das análises estatísticas podem ser visualizados nos **gráficos 11**

a 14:

Gráfico 9. Grupo 1172_8W: Média do volume do SCR após filtragem e segmentação. Eixo X: # 1, 4, 7, 16 e 22 referentes a MM60; # 2, 5, 8, 17, 23, Otsu 2D; e, # 3, 6, 9, 18, 24, Otsu 3D.

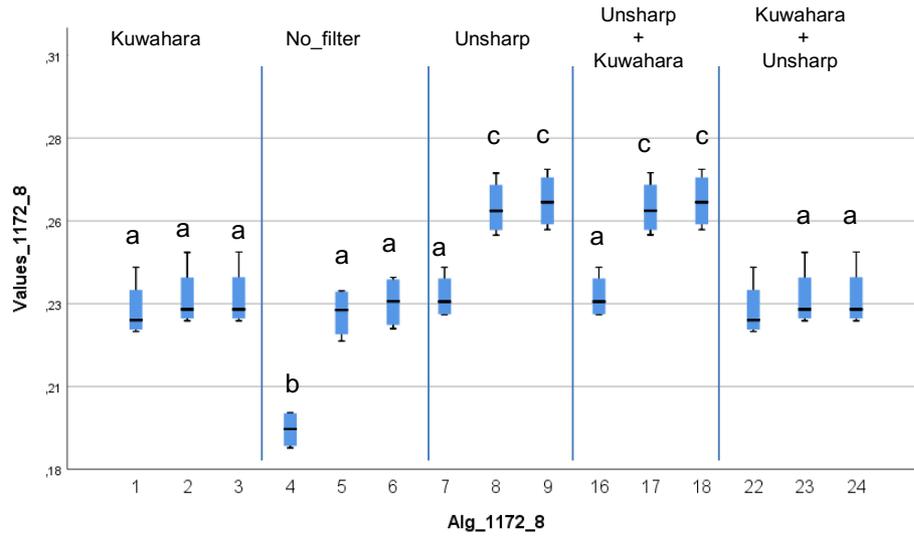


Gráfico 10. Grupo 1172_10 W: Média do volume do SCR após filtragem e segmentação. Eixo X: # 1, 4, 7, 16 e 22 referentes a MM60; # 2, 5, 8, 17, 23, Otsu 2D; e, # 3, 6, 9, 18, 24, Otsu 3D

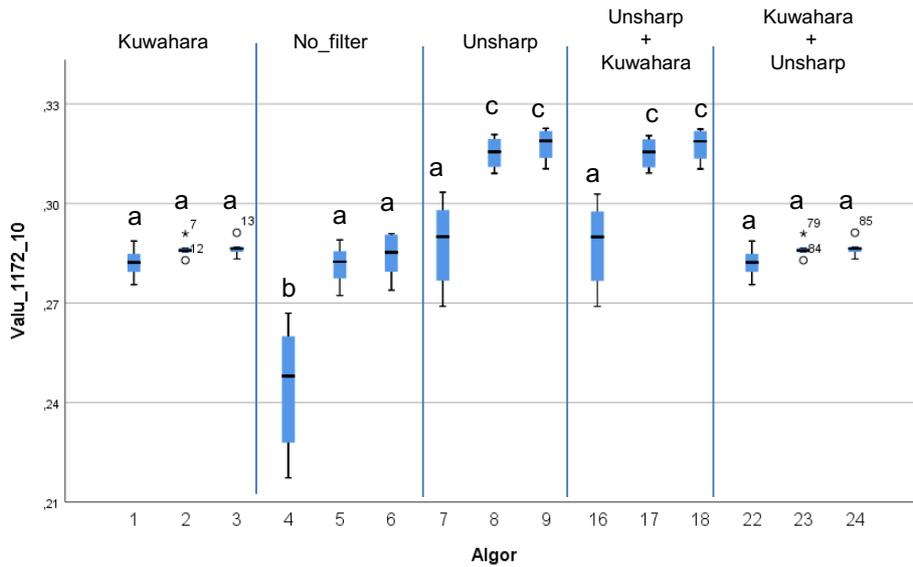


Gráfico 11. Grupo 1173: Média do volume do SCR após filtragem e segmentação. Eixo X: # 1, 4, 7, 16 e 22 referentes a MM60; # 2, 5, 8, 17, 23, Otsu 2D; e, # 3, 6, 9, 18, 24, Otsu 3D.

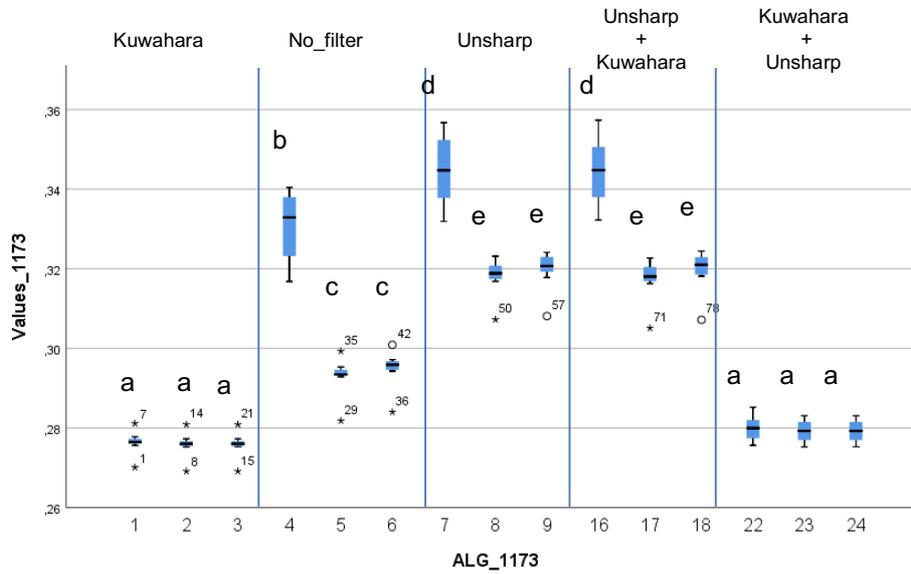


Gráfico 12. Grupo NanoTom: Média do volume do SCR após filtragem e segmentação. Eixo X: # 1, 4, 7, 16 e 22 referentes a MM60; # 2, 5, 8, 17, 23, Otsu 2D; e, # 3, 6, 9, 18, 24, Otsu 3D.

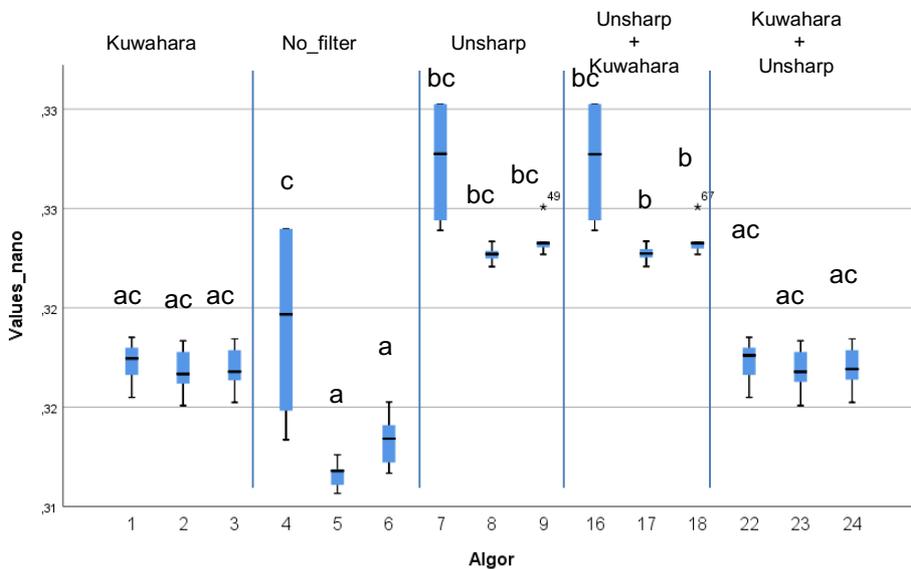
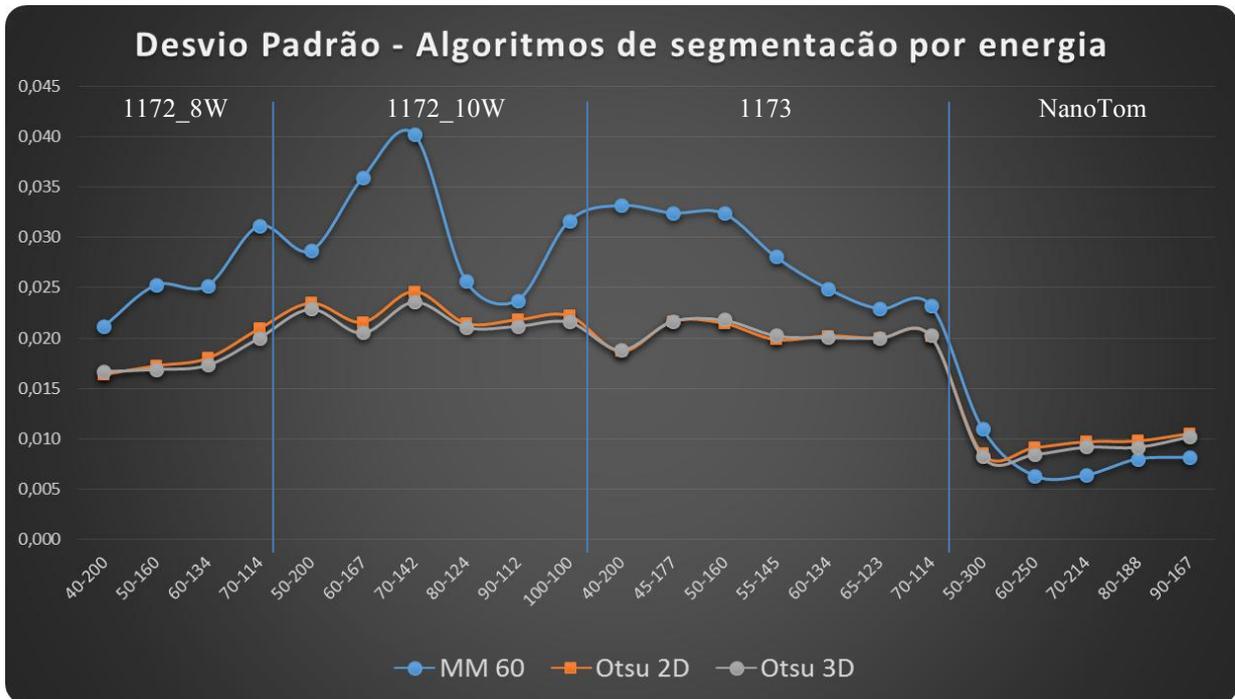


Gráfico 13. Desvio padrão dos diferentes algoritmos de segmentação (cores) separados entre os aparelhos e energias correspondentes.



5. DISCUSSÃO

Os resultados da presente tese mostram que há uma influência direta e significativa da escolha dos parâmetros de aquisição e do processamento das imagens na capacidade de um sistema de microCT na definição das bordas do objeto que, em Endodontia, significam o sistema de canais radiculares. É importante ressaltar que o reconhecimento destes pequenos poros na realidade corresponde à detecção de pequenas estruturas anatômicas do SCR, e que estas são ramificações, istmos, pequenos canais e comunicações entre canais que, mesmo não estando visivelmente relacionadas ao canal principal, estão altamente relacionadas a presença de bactérias persistentes ao tratamento endodôntico (INGLE & BEVERIDGE, 1976; SIQUEIRA & RÔÇAS, 2008; VERMA & LOVE, 2011).

Como dito anteriormente, em três dos cinco mais frequentes temas de aplicação desta técnica em Endodontia: no estudo da instrumentação dos canais radiculares; na geração de trincas e fraturas; e no estudo da anatomia interna; temos somente dois tipos de materiais que compõem o objeto a ser estudado: a dentina e o SCR que, por apresentar coeficiente de atenuação muito baixo e inferior a dentina, pode ser considerado poro (vazio). Deve-se portanto ressaltar a importância de se trabalhar com uma resolução espacial sensível a ponto de permitir sua visualização e, conseqüentemente, definir de maneira correta o limite entre a borda da dentina e o SCR. Este é o fator mais importante na visualização e posterior correta quantificação do SCR, influenciando nos resultados de trabalhos que utilizam a microCT em dentes.

Neste sentido, o artigo 1 do presente estudo mostrou a importância da definição e utilização da resolução espacial na comparação objetiva de resultados vindos de diferentes aparelhos, tanto quantitativos quanto qualitativos, e que somente a informação do tamanho de *pixel* utilizado na aquisição não é suficiente para replicação de estudos que utilizam a microCT. Evidenciou-se a importância dos outros fatores que influenciam a resolução espacial fornecida por diferentes tomógrafos quando se utilizam os mesmos parâmetros de aquisição.

O primeiro estudo a atentar a esta informação foi PETERS & PAQUÉ (2011), onde mostraram que o tamanho de *pixel* utilizado afetou diretamente resultados do estudo. Para isto, compararam a quantidade de área tocada do canal principal por diferentes sistemas de instrumentação, em diferentes tamanhos de *pixel* do mesmo tomógrafo e mostraram que, quando se utilizou um tamanho de *pixel* de 20 μ m, apresentou-se 25,2% de área do canal não tocada pelo instrumento. Porém, quando se recalculou a mesma área utilizando *pixel* de 34 μ m, o resultado foi de 38,8% de área

não tocada. A resolução espacial propriamente dita, porém, não foi abordada ou discutida por este artigo.

Resultados como o exposto acima contribuíram para que se considerasse correta a afirmação de que "quanto menor o *voxel size*, melhor a resolução espacial, o que resulta em uma imagem de maior qualidade" (FREITAS, 2017; NEELAKANTAN, 2010). Entretanto, não houve uma reflexão em relação ao significado deste parâmetro quando utilizado na comparação entre sistemas, em relação as fundamentações de replicabilidade e comparação de resultados do método científico. O presente trabalho demonstrou que esta afirmativa pode estar correta, devido à grande influência do tamanho do *pixel* na RE, porém, somente se usado o mesmo tomógrafo, mas não para comparação de estudos que não utilizaram o mesmo equipamento. Isto pode ser visualizado na **Figura 33**, em que a amostra da presente tese foi escaneada com os mesmos parâmetros de aquisição (tamanho de *pixel* inclusive) em três diferentes tomógrafos:

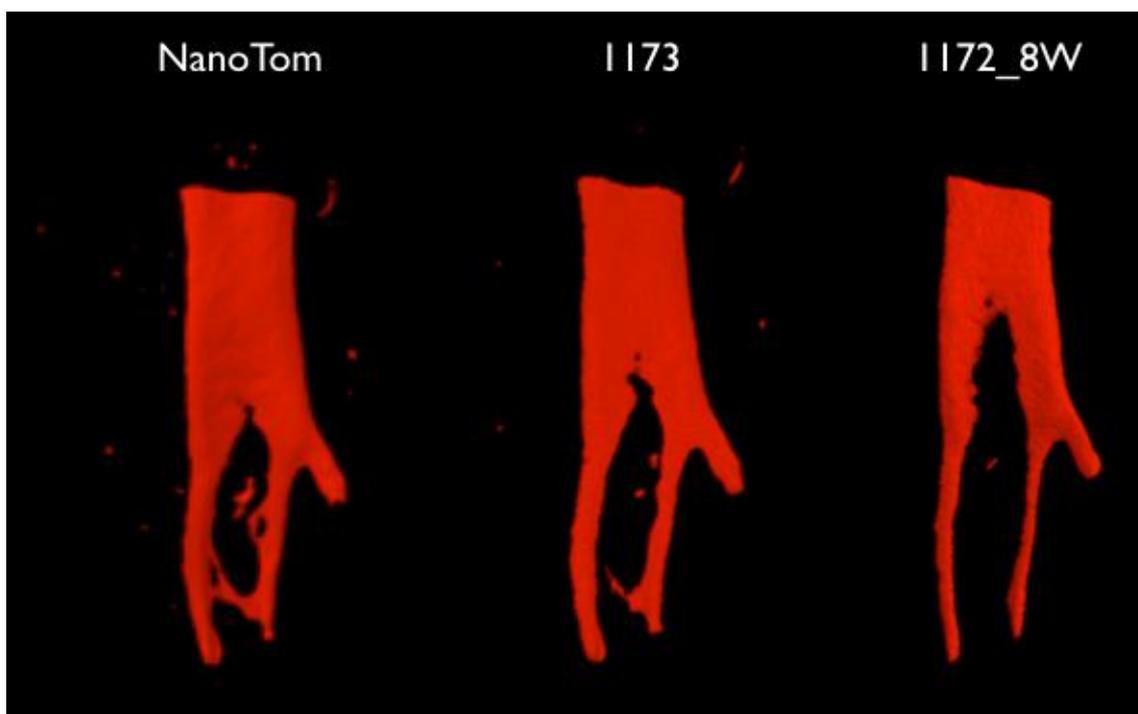


Figura 33. Amostra escaneada com os mesmos parâmetros de aquisição (incluindo tamanho de *pixel*) em três diferentes tomógrafos mostrando diferentes estruturas anatômicas

Como o demonstrado acima, fica claro que, mesmo sendo comum, supor que tamanho de *pixel* é equivalente à resolução espacial do sistema é um erro, já que o mesmo dente, com o mesmo tamanho de *pixel* e parâmetros de aquisição, apresentou resultados significativamente diferentes, tanto qualitativa quanto quantitativamente.

Comprova-se que o tamanho do pixel é um termo puramente geométrico que, apesar de sua grande influência, torna-se sem sentido na comparação de diferentes sistemas devido a influência de outros fatores no cálculo da resolução do sistema (CARL ZEISS MICROSCOPY GMBH, 2013).

Dito isto, torna-se necessária uma medida de comparação padrão baseada em normas com o intuito de se permitir a comparação objetiva e sem vieses, entre diferentes sistemas. Neste sentido, a resolução espacial é a medição científica padrão usada, desde tomógrafos médicos e microtomógrafos de bancada aos microscópios ópticos comuns, para este fim. A RE fornece o método mais significativo de avaliar o desempenho de um instrumento pois fornece uma medida direta da capacidade de imagem completa do sistema e refere-se à separação mínima na qual um par de recursos podem ser resolvido por um sistema de geração de imagens e, portanto, para comparar sistemas objetivamente (CARL ZEISS MICROSCOPY GMBH, 2013). Este valor se torna compreensível por ser medido na imagem resultante final, e leva em conta todas as características na formação da imagem, estando relacionado a capacidade de diferenciação da menor distância existente entre duas estruturas muito próximas. A determinação da RE nas imagens tomográficas pode ser avaliada através da função de transferência de modulação (MTF), como utilizado por TELES (2016), com base nas normas EN 12543-5 (BRITISH STANDARD, 1999) e E2903-13 (ASTM INTERNATIONAL, 2013).

Para a obtenção da resolução espacial em sistemas de microCT, TELES (2016) utilizou o método de borda inclinada (*Slanted edge method*) (JUDY, 1976), traçando um perfil de densidade na borda de uma imagem radiográfica de uma placa de tungstênio quadrada de bordas finas, $51,1 \pm 0,1$ mm de lado e $2,0 \pm 0,1$ mm de espessura, inclinada a um ângulo de $5,0 \pm 0,5^\circ$ utilizando o *Isee software* (BAM). Este método não é tecnicamente complicado ou oneroso, sendo de fácil replicação e passível de ser feito em *software freeware* como o Isee. Após o cálculo, o resultado final mostra a correlação entre o tamanho de *pixel* utilizado e a RE atingida, e pode ser visualizado na **Figura 5**, na seção 2.3.1 da presente tese.

Baseando-se no correto cálculo e utilização da RE, seria interessante através de estudos futuros a determinação de uma RE ótima para trabalhos em Endodontia. Isto possibilitaria entender o tamanho dos canais radiculares menores, como os canais secundários e acessórios, e suas interações, além dos limites de visualização dos túbulos dentinários. Isto já ocorre em estudos que utilizaram a microCT na investigação da arquitetura trabecular óssea, como o trabalho de PEYRIN (2014), que concluíram que os sistemas padrão de microCT usados foram relatados como limitados para a

visualização de lacunas de osteócitos. Segundo o autor, isto era previsível, já que a imagem de lacunas de osteócitos requer uma resolução espacial melhor que 5 ou 10 μm (PEYRIN, 2014).

Na literatura endodôntica porém, a microCT ainda carece de conhecimentos rigidamente fundamentados a respeito da influência da RE nos resultados, como pôde ser visto no trabalho de PARK *et al.* (2009), em que se considerou a falta de comunicação entre canais menores e o canal principal como “segmentos calcificados”. Os autores não consideraram que esta comunicação poderia existir em uma resolução melhor que a oferecida pelos parâmetros e/ou sistema de microCT utilizados, não levando em conta a limitação da técnica do sistema que, neste caso, foi a resolução espacial oferecida pelo microCT.

Como visto na presente tese, as estruturas menores do SCR estariam na ordem de unidade de micrometros e, segundo o trabalho de PEYRIN *et al.* (2014), o tamanho do *pixel* próximo ao diâmetro dos canalículos dentinários estaria ao se utilizar uma resolução espacial de 600 nm a 10% de função de transferência de modulação fornecida pelo aparelho SkyScan2211. Com este resultado, supõe-se que a RE ótima para trabalhos de avaliação do SCR em Endodontia deva estar entre poucos micrometros a algumas centenas de nanômetros. Além de fornecer informações sobre a RE ótima, foi visto que, neste nível de detalhamento do dente, as segmentações se tornaram desafiadoras e exigiram métodos mais sofisticados de processamento de imagens (PEYRIN *et al.*, 2014).

Trabalhar com o menor tamanho de pixel possível no intuito de se ter a melhor RE é importante, porém, limitado pela geometria do sistema, como exposto na seção de fundamentação teórica da presente tese. Desta forma, nos microtomógrafos utilizados nesta tese para se escanear o volume total de um dente deve-se trabalhar com tamanhos de pixel maiores que 14 μm que, como demonstrado por TELES (2016), equivale a uma RE mínima de 21 μm no equipamento Skyscan 1173. Caso o intuito seja trabalhar com tamanhos de *pixel* menores que este, deve-se focar o feixe em partes específicas da amostra, aumentando a magnificação. Este tipo de abordagem aumenta a informação gerada pela detecção de pequenas estruturas anatômicas e faz com que diversos poros previamente não conectados ao canal principal mostrem conexão (SANTOS, 2012).

Estas observações podem ser visualizadas na **figura 34**, realizada para exemplificação em que a raiz de um pré-molar inferior escaneada em dois parâmetros diferentes, *pixel size* de 14,8 μm e 3.74 μm , mostrando o aumento de novas estruturas

anatômicas visualizadas. Entretanto, dois operadores ao avaliarem estes dados, concordaram que houve significativo aumento no tempo necessário para a análise qualitativa nos *datasets* advindos do menor tamanho de pixel, juntamente com um aumento da dificuldade de visualização e avaliação das estruturas. Na literatura, é sabido que o aumento da resolução espacial coloca uma maior demanda nos algoritmos de reconstrução e processamento de dados para analisar amostras com campo de visão significativo (PEYRIN *et al.*, 2014).

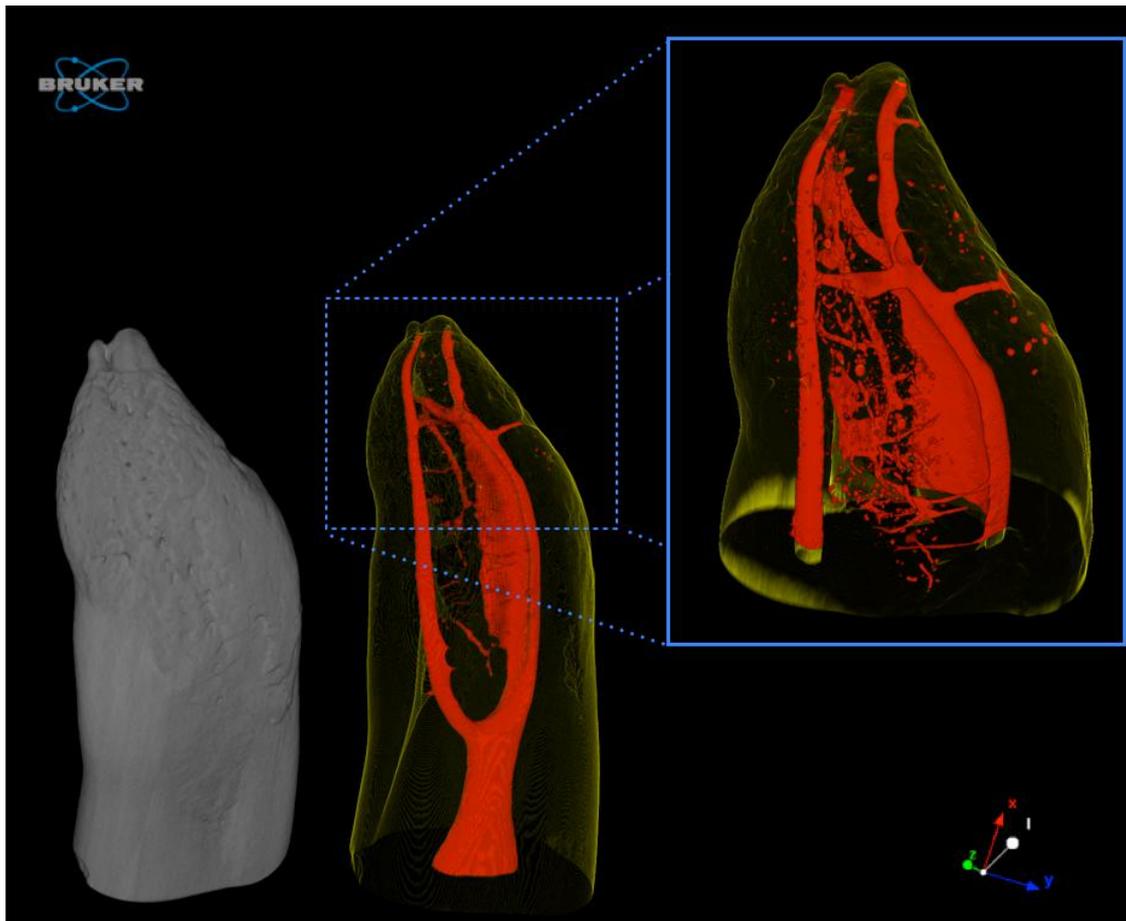


Figura 34. Raiz de um pré-molar inferior escaneada em dois parâmetros diferentes mostrando o aumento das estruturas anatômicas visualizadas. `A esquerda, pixel size de 14,8 μm ; `a direita, pixel size de 3.74 μm .

O não entendimento destas pequenas estruturas devido a não discussão na literatura endodôntica, e pela maior parte dos dentistas ser mais familiarizada na avaliação das imagens de CBCT (que apresentam pior qualidade de imagem) e, conseqüentemente, maior incidência de *speckles*, torna comum por parte de revisores de revistas científicas a arguição da presença de *speckles* quando não se utiliza a ferramenta “*despeckle: sweep all except the largest object*”, no CTAn, após a binarização do SCR, amplamente utilizado por ser recomendado por notas técnicas

(BRUKER, 2018). Deve-se ter em mente que, dependendo do que se está a estudar, esta operação morfológica pode ser válida por simplificar todo o complexo sistema de canais radiculares aos canais principais, porém, eliminariam pequenos canais não conectados ao canal principal. Desta forma, deve-se ter uma justificativa para o seu uso e o conhecimento da influência desta ferramenta no resultado final. Além de ser importante ressaltar que estas pequenas estruturas, ou poros, não conectados ao canal principal, poderiam ser visualizados em resoluções melhores, podendo representar estruturas anatômicas que justificariam o fracasso da terapia Endodôntica.

Além dos parâmetros de aquisição e processamento de imagens, a RE e, conseqüentemente, a presença destas pequenas estruturas do SCR também está relacionada ao algoritmo de reconstrução, como a utilização de filtros de suavização (PAUWELS, R. *et al.*, 2015; LIMA, 2002), e aos parâmetros utilizados no processo de reconstrução. Por mais que não esteja na proposta desta tese aprofunda-los, uma discussão a respeito de alguns destes se faz necessária.

Primeiramente, não foram utilizados na presente tese ferramentas avançadas de reconstrução, somente as básicas oferecidas pelo *software* NRecon. Outro ponto importante é considerar que, mesmo influenciando em todos os passos subsequentes, não existe um valor “perfeito” para os parâmetros de reconstrução, sendo basicamente determinado através da experiência e avaliação do operador. Na presente tese, para os parâmetros de *Smoothing*, *Ring artefact reduction* e *Beam-hardening correction*, um valor apropriado foi determinado para cada equipamento além de se utilizar parâmetros como *update flat field* e *random moviment* e um filtro de alumínio de 1mm de espessura na aquisição das imagens. Para a determinação do valor de *Beam-hardening correction* utilizou-se a ajuda de uma linha de perfil feita sobre a imagem reconstruída onde se buscou o mesmo perfil do gráfico gerado entre as imagens dos diferentes equipamentos. Já para o *Misalignment compensation* um valor apropriado foi determinado para cada *dataset*, por tentativa e erro, também baseado na experiência do operador. Ao final, buscou-se a melhor definição de bordas na imagem reconstruída, e o mesmo nível de suavização e contraste entre as imagens dos diferentes equipamentos.

Além da RE, a presente tese mostrou que a presença destas estruturas tem sua incidência relacionada a definição da borda da dentina de forma mais fidedigna possível, sendo necessário um bom contraste entre os dois materiais e nível de ruído mínimo para que seja permitida esta definição. Desta forma, no artigo 2, abordou-se a influência do contraste na imagem final, ao se compararem aquisições com diferentes energias de feixe. Deve-se destacar que as características energéticas do feixe são o

único fator, passível de ser controlado pelo operador, que influenciam no cálculo do coeficiente de atenuação e, conseqüentemente, no contraste.

Desta forma, podemos verificar que menores energias do feixe de raios-X (kV) estão relacionadas a um melhor contraste e maior incidência destas pequenas estruturas. Isto ficou evidente nos grupos *1172_8W*, *1173* e *NanoTom* em que as melhores imagens foram visualizadas na energia mais baixa, seguindo-se em ordem crescente de energias. Entretanto, para o grupo *1172_10W*, a melhor imagem foi na seguinte ordem de energia: 90kV, 80kV, 100kV, 50kV, 60kV, 70kV; não havendo um motivo muito claro para este resultado. Outro fator positivo para o uso de energias menores é a possibilidade de se trabalhar, dependendo do tomógrafo, com um tamanho focal menor e, conseqüentemente, uma melhor resolução espacial.

É importante notar que houve um pico de aumento de volume nos grupos *1172_8W* e *1173_8W*, quando se utilizou a energia de 70kV, independentemente do processamento de imagem posterior, não sendo acompanhado, entretanto, pelo surgimento de estruturas qualitativas que o justificassem. Desta forma, não houve correlação absoluta entre o número e características das estruturas visualizadas qualitativamente e o volume final. Excluindo-se o grupo de *datasets* de 70kV, onde este pico de volume foi observado, a melhor imagem de cada grupo sempre correspondeu à que apresentou o maior volume, assim como as subseqüentes em volume decrescente

Dito isto, deve-se perguntar: teria o aumento de volume em 70kV relação com os raios X característicos do anodo (tungstênio) como mostra a **figura 35**? Por ser somente visualizado em aquisições com potência de 8 Watts, estaria estes picos relacionados ao valor do SNR, já que os menores valores de SNR foram vistos nas menores potências? Trabalhos futuros são necessários para uma melhor avaliação e resposta.

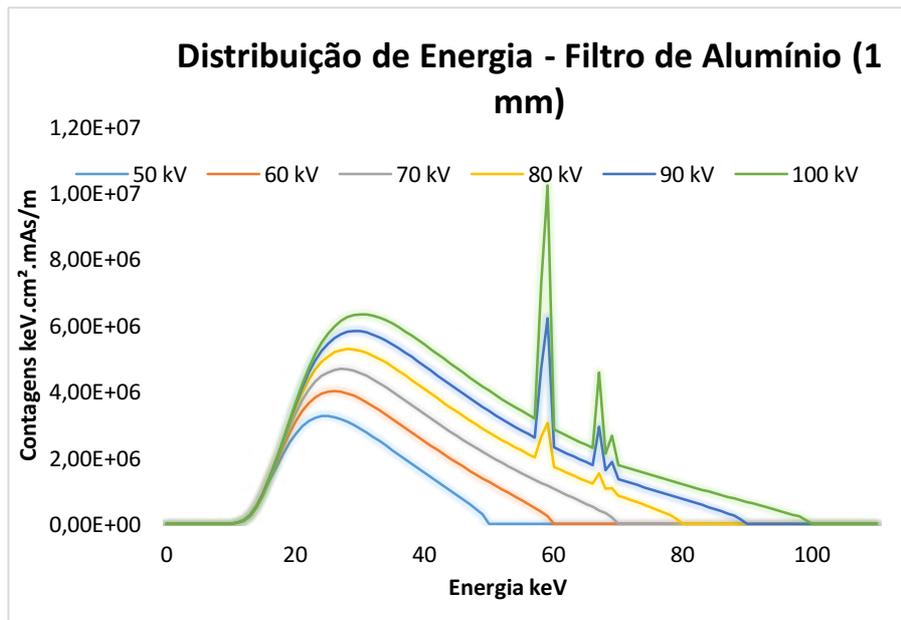


Figura 35. espectro de raios X com uso de filtro de alumínio de 1mm (ARAUJOI, 2016).

A influência do ruído também deve ser aprofundada em trabalhos futuros. Na presente tese, foi visto que alguns *datasets* adquiridos com feixes de baixa energia (40 e 45 kV, no grupo 1173) foram descartados por apresentarem grande quantidade de perda de estruturas, ao mesmo tempo que apresentaram os menores índices de SNR de todos os grupos, menores que 700. Isto indica que aquisições que fornecem valores de SNR menores que este, provavelmente são baixos, com fluxo limitado de fótons para trabalho em dentes (PEYRIN *et al.*, 2014). Além disso, foi possível observar uma melhora acentuada da SNR em função do aumento da tensão do feixe (kV), apresentando um aumento gradual e linear da média de SNR, com diferença significativa entre todas as energias nos tomógrafos 1173 e Nanotom. Entretanto, esta relação tende a diminuir e se estagnar em determinado ponto da curva como foi observado, no grupo 1172_8W que não apresentou diferença significativa entre as duas últimas energias.

Levando em consideração que a potência do feixe (em watts), e não a corrente (em μA), foi mantida constante para todas as medidas, o aumento da SNR é reflexo do aumento da energia média dos fótons que são detectados no sensor de radiação. Fótons com maior energia têm menor probabilidade de interagir com o objeto, resultando em uma maior quantidade de fótons atingindo o detector favorecendo assim o aumento da SNR. Desta forma, observa-se que de modo geral, quanto maior a corrente aplicada (μA) assim como nas maiores potências, tem-se menores valores de ruído. Mais uma vez, a única exceção foi o grupo 1172_10W, que apresentou aumento da SNR até a tensão de 80kV, havendo decréscimo gradual nas duas energias subsequentes.

Deste modo, uma consideração se faz necessária ao se analisarem os resultados do grupo 1172_10W: as aquisições deste grupo foram as que mais demandaram tempo, cerca de 4 horas cada e, devido a isto, foram necessários dois dias, o que pode ter gerado mudança de posição da amostra além de aumentar a incidência dos ruídos inerentes ao sistema, como explicado na fundamentação teórica da presente tese.

A movimentação da amostra entre as aquisições dos diferentes aparelhos também traz consigo uma incerteza associada ao seu posicionamento e impede a comparação direta do volume do SCR entre os diferentes tomógrafos. Desta forma, mesmo a amostra estando fixada em isopor e com o uso da base de alumínio, foi realizada somente a comparação qualitativa, enquanto a quantitativa ocorreu em relação ao volume entre *datasets* do mesmo tomógrafo.

Os resultados do grupo 1172 sugerem que a utilização de maiores potências energética (watts) está relacionada a ganho de informação, visto que as melhores imagens foram visualizadas quando se utilizou 10 watts em comparação com 8w, estando relacionado ao aumento da amperagem (μA) e, conseqüentemente, melhoria da SNR. Isto pode ser verdade quando em um mesmo aparelho, porém, entre diferentes tomógrafos, esta relação não pôde ser feita já que o grupo 1173 em 8w apresentou melhores imagens que o 1172 em 10w. Mostra-se mais uma vez que a RE é a única medida de comparação entre sistemas pois considera o conjunto dos fatores de influência e não somente um fator isolado, no caso, a potência utilizada.

O processamento de imagens foi abordado nos artigos 3 e 4, que mostraram a influência significativa dos algoritmos matemáticos nos resultados desta metodologia. Desta forma, é importante o entendimento de que algoritmo é uma fórmula matemática programada para decidir como a informação deve ser classificada, atribuindo valor a certas partes dos dados e descartando o que não é valioso. Portanto, a avaliação de imagens geradas por diferentes algoritmos deve ser realizada de maneira qualitativa, por ser a visualização de estruturas primordial quando se trabalha com uma imagem, e quantitativa, trabalhando com os valores médios providos e com a variação deste, representada estatisticamente pelo desvio padrão. Este último é extremamente importante na análise de um algoritmo pois, pelo algoritmo valorizar mais alguns elementos do que outros, um baixo desvio padrão após o uso de certo filtro ou algoritmo de segmentação significa que os valores resultantes destes algoritmos são mais confiáveis ou previsíveis. Conseqüentemente, é interessante que qualquer algoritmo, seja ele de filtro ou segmentação, apresente um desvio padrão aceitável quando correlacionado à avaliação qualitativa. Desta forma, a possibilidade de repetição e

comparação entre diferentes estudos, como exige o método científico, ocorre com maior confiança, pois o menor desvio padrão torna o conjunto dos resultados mais homogêneo.

Neste sentido, o presente trabalho mostrou que, em todos os tomógrafos estudados, o uso dos filtros *Kuwahara* e *Unsharp Mask* levaram a uma diminuição do desvio padrão em relação ao *dataset* bruto (grupo *No_filter*). Já o filtro *Anisotropic diffusion* acarretou em um aumento nos valores do desvio padrão, mesmo quando utilizado como segundo filtro.

Qualitativamente, as melhores imagens em todos os quatro grupos de tomógrafos/parâmetros foram verificadas com a utilização do filtro *Unsharp*, seguido de "*No_filter*" e *Kuwahara* respectivamente. Isto foi acompanhado, com diferença significativa, no aumento do volume do SCR quando se utilizou o filtro *Unsharp mask* sozinho ou como primeiro filtro em uso combinado, em todos os tomógrafos, com uma única exceção: em combinação com o *Anisotropic diffusion*, este sendo o segundo, no grupo Nanotom. Isto pode ser explicado pelo *Unsharp* ter sido desenvolvido com o objetivo de se aumentar o contraste entre o poro e a dentina (BRUKER, 2018).

Somente o filtro "*anisotropic diffusion*" mantém o contraste original. O "*anisotropic diffusion*" promete ótima suavização do ruído com a preservação da borda sem a perda de informação do processo de filtragem (BRUKER, 2018). Também houve diferença significativa na diminuição do volume do SCR quando se utilizou o filtro *Anisotropic diffusion*, sozinho ou como primeiro filtro em uso combinado, em todos os tomógrafos, com uma única exceção: quando comparado ao grupo que não se utilizou de filtro, no grupo 1172_8W. Desta forma, o maior desvio padrão, diminuição do volume médio do SCR, acompanhado de uma piora na qualidade da imagem do filtro *Anisotropic diffusion*, desqualificam este filtro para o uso em dentes.

Já o uso do filtro de suavização *kuwahara* manteve as estruturas principais do SCR em todas as imagens e apresentou o menor desvio padrão de todos os filtros, porém, ao custo de uma significativa redução das estruturas visualizadas qualitativamente, como pode ser visto nas **Figuras 19 a 23**.

Em nenhum dos casos, a utilização de um segundo filtro acarretou em ganho qualitativo ou quantitativo, ou até mesmo na diminuição do desvio padrão, sendo desta forma desencorajada uma segunda filtragem, por demandar maior tempo de processamento.

A importância de um baixo desvio padrão também se fez presente na definição dos algoritmos de segmentação, abordado como tema do artigo 4. Nos tomógrafos que

apresentaram melhores imagens qualitativas, 1173 e NanoTom, as melhores segmentações ocorreram no grupo em que se utilizou um algoritmo semiautomático (*MM_60*), seguido pelos algoritmos automáticos *Otsu_3D* e *Otsu_2D*, respectivamente. O valor de desvio padrão do MM60 porém, foi muito superior ao Otsu 2D e 3D. Já no tomógrafo 1172, que apresentou imagens piores qualitativamente, as melhores segmentações foram com o uso dos algoritmos automáticos, grupos *Otsu_3D* e *Otsu_2D*, seguido por e *MM_60*, respectivamente. Estes resultados sugerem que, quando apresentada uma imagem de qualidade boa, o operador pode agregar benefício a segmentação.

Cabe aqui uma reflexão: o que é mais importante neste tipo de trabalho, a maior visualização de estruturas ao “preço” da inclusão da possibilidade de viés do operador, ou sua capacidade de replicação e comparação de resultados dos métodos automáticos, como exige o método científico? Independentemente do supracitado, entretanto, um importante resultado é que os grupos *Otsu_3D* apresentaram melhores imagens em todos os tomógrafos em comparação com *Otsu_2D* (espaço 3D em comparação com o espaço 2D).

6. CONCLUSÃO

A partir dos resultados desta tese, vimos que as estruturas anatômicas e materiais estudados, seja por análise qualitativa ou parâmetros quantitativos, em trabalhos de microCT têm sua frequência relacionada ao aparelho utilizado; aos parâmetros físicos determinados na aquisição, como a resolução espacial, o contraste e o ruído; assim como às técnicas de pós-processamento e análise de imagens. Conseqüentemente, a simples repetição dos mesmos parâmetros de aquisição não são suficientes para a correta interpretação, comparação e replicação dos resultados obtidos entre diferentes aparelhos, explicitando a necessidade de padronização na literatura Endodôntica.

Neste contexto, a sugestão de um protocolo padrão para uso desta tecnologia em Endodontia deve ser estabelecida sob:

- A utilização da Resolução Espacial como o parâmetro para a padronização e comparação e, principalmente, interpretação de resultados dos estudos;
- Em relação aos arranjos energéticos de aquisição, deve-se utilizar a menor kilovoltagem (kV) na geração do feixe possível, sendo esta limitada pelo nível de ruído (SNR) associado ao arranjo. Isto se deve à obtenção de uma correlação positiva entre a diminuição da tensão do feixe e a qualidade e quantidade de estruturas visualizadas, assim como a perda de estruturas do SCR relacionadas a valores mais baixos de SNR, como demonstrado nesta tese;
- Em processamento de imagens, a utilização do filtro *Unsharp mask* é altamente recomendado para aplicações da microCT em dentes visto que houve uma melhora estatisticamente significativa no volume e a qualidade de segmentação dos canais radiculares, além da diminuição da variância em relação a imagem bruta;
- Um método semiautomático de binarização gerou as melhores imagens, entretanto o método automático desenvolvido por *Otsu*, em espaço tridimensional, apresentou resultados mais consistentes. Desta forma, deve-se considerar a relevância e influência dos dados qualitativos e quantitativos na hipótese testada, além do número de amostras, para de determinação do algoritmo de segmentação. Os resultados das segmentações apresentadas sugerem que a influência do operador, em

métodos semiautomáticos, pode ser benéfica quando se trabalha com imagens de qualidade ótima.

Espera-se que a visão geral e os exemplos dados aqui possam fornecer inspiração as novas investigações que utilizarão esta tecnologia revolucionária, assim como contribuir na definição e padronização no relato dos parâmetros, com o intuito de no futuro, com a utilização RE como parâmetro de comparação de resultados, esta seja simplificada e possível.

BIBLIOGRAFIA

ADELSON, E.H., 1993, "Perceptual organization and the judgment of brightness", *Science*, v. 262, p.2042.

AHMAD, A.M., ALISON, J.E., QUALTROUGH, B.C.H.D., DAVID C., WATTS, 2009, "A Microcomputed Tomography Scanning Study of Root Canal Space: Changes after the Ultrasonic Removal of Fractured Files", *Journal of Endodontics*, v. 35, n. 1.

ALAVI, A.M., OPASANON, A., NG, Y.L., GULABIVALA K., 2002, Root and canal morphology of Thai maxillary molars. *International Endodontics Journal* v.35: pp. 478-485.

ANTUNES, S.H., RÔÇAS, I.N., ALVES, F.R.F., SIQUEIRA, JR.J.F, 2015, "Total and specific bacterial levels in the apical root canal system of teeth with post-treatment apical periodontitis". *Journal of Endodontics* v. 41:1037-1042.

ASHRAF, E., MAREN, H-J., 2014, "Apical Constriction: Location and Dimensions in Molars— A Micro–Computed Tomography Study", *Journal of Endodontics*, v.40: 8; pp. 1095-1099.

ASTM INTERNATIONAL, E2903-13, 2013, "Standard Test Method for Measurement of the Effective Focal Spot Size of Mini and Micro Focus X-ray Tubes". ASTM International, West Conshohocken, PA, 2013, www.astm.org.

BABA, R., KONNO, Y., UEDA, K., IKEDA, S., 2002, "Comparison of flat-panel detector and image-intensifier detector for cone-beam CT", *Computerized medical imaging and graphics*, v.26, pp. 153-158.

BELLADONNA, F.G., CARVALHO, M.S., CAVALCANTE, D.M., FERNANDES, J.T., DE CARVALHO MACIEL, A.C., OLIVEIRA, H.E., LOPES, R.T., SILVA, E.J.N.L., DE-DEUS, G., 2018, "Micro–computed Tomography Shaping Ability Assessment of the New Blue Thermal Treated Reciproc Instrument", *Journal of Endodontics*, v.44, pp.1146-1150.

BERGMANS, L., VAN CLEYNENBREUGEL, J., WEVERS, M., LAMBRECHTS, P., 2001, "A methodology for quantitative evaluation of root canal instrumentation using microcomputed tomography". *Int Endod J* 34:390-8.

BERKAN, C., REINHILDE, J., VASCONCELOS, K.V., HUANG, Y., NICOLIELO, L.F.P., ORHAN, K., 2017, "Assessment of Volumetric Distortion Artifact in Filled Root Canals Using Different Cone-beam Computed Tomographic Devices", *Journal of Endodontics*, v.43, pp.1517-1521.

BOUXSEIN, M.L., BOYD, S.K., CHRISTIANSEN, B.A., GULDBERG, R.E., JEPSEN, K.J., MÜLLER, R., 2010, "Guidelines for assessment of bone microstructure in rodents using micro-computed tomography", *Journal of Bone and Mineral Research*, v. 25, pp. 1468-1486.

BRITISH STANDARD, EN 12543-5,1999, "Measurement of the effective focal spot size of mini and micro focus X-ray tubes". Non-destructive testing – Characteristics of focal spots in industrial X-ray systems for use in non-destructive testing, Part 5, Londres, Inglaterra, BSI.

BRUKER MICROCT, 2017, "MicroCT 3D registration after tooth root canal procedure: removed volume, drill debris and touched/untouched surfaces", Method note MN110.

BRUKER MICROCT, 2018, "Advanced image filtering", Method note MN112.

BRULLMANN, D., SCHULZE, R.K.W., 2015, "Spatial resolution in CBCT machines for dental/maxillofacial applications-what do we know today?" *Dento maxillo facial radiology*, v.44: 1; pp.20140204.

BUZUG, T. M., 2008. "Computed Tomography: From Photon Statistics to Modern Cone-Beam CT". Verlag Berlin Heidelberg, Springer.

CARL ZEISS MICROSCOPY GMBH, 2013, "Resolution of a 3D x-ray microscope", Technical note, Germany.

CAVALCANTI, M., 2010, Tomografia computadorizada por feixe cônico: princípios de formação de imagem, técnicas e indicações para a Odontologia. In: Cavalcanti M. Tomografia Computadorizada por Feixe Cônico. 1a ed., São Paulo: Santos, pág 1.

CESAREO, R., 2000. X-ray physics: Interaction with matter, production, detection. *La Rivista del Nuovo Cimento*, v. 23, pp. 1-231.

CHAOUKI, J., LARACHI, F., DUDUKOVIC, 1997, "Noninvasive Tomographic and Velocimetric Monitoring of Multiphase Flows", *Industrial & Engineering Chemistry Research*, v.36, pp. 4476-4503.

CLEGHORN, B.M., CHRISTIE, W.H., DONG, C.C.S., 2006, Root and root canal morphology of the human permanent maxillary first molar: a literature review. *Journal of Endodontics* v. 32: 813-821.

COHENCA, N., SIMON, J.H., ROGES, R., MORAG, Y., MALFAZ, J.M., 2007, Clinical indications for digital imaging in dento-alveolar trauma - Part 1: traumatic injuries. *Dent Traumatol* v. 23: pp. 95–104.

COTTON, T.P., GEISLER, T.M., HOLDEN, D.T., SCHWARTZ, S.A., SCHINDLER, W.G., 2007, Endodontic applications of cone-beam volumetric tomography. *Journal of Endodontics* v.33, pp. 1121-1132.

DAVIS, G.R., EVERSHED, ANTHONY N.Z., MILLS, D., 2013, "Quantitative high contrast X-ray microtomography for dental research", *Journal of Dentistry*, v.41, pp.475-482.

DAVIS, S.R., BRAYTON, S.M., GOLDMAN, M., 1972, The morphology of the prepared root canal: A study utilizing injectable silicone. *Oral Surgery, Oral Medicine and Oral Pathology* v. 33: pp. 101-110.

DE-DEUS, G., SILVA, E., MARINS, J., SOUZA, E., NEVES, A., 2014, "Lack of causal relationship between dentinal microcracks and root canal preparation with reciprocation systems". *Journal of Endodontics*, v.40, pp. 1447-1450.

ELAYOUTI, A., HULBER-J, M., JUDENHOFER, M.S., CONNERT, T., MANNHEIM, J.G., LOST C., PICHLER, B.J., VON OHLE, C., 2014, "Apical constriction: Location and dimensions in molars - A micro-computed tomography study", *Journal of Endodontics*, v. 40, pp. 1095-1099.

ELKHATEEB, S.M., TORGERSEN, G.R., ARNOUT, E.A., 2016, "Image quality assessment of clinically-applied CBCT protocols using a QAT phantom", *Dentomaxillofacial Radiology*, v.45.

ENGELHARDT, M., BAUMANN, J., 2006, "Determination of size and intensity distribution of the focal spot of a microfocus X-ray tube using image processing". In: *Proc. ECNDT 2006, Th.2.5.4.*, pp. 1-13, Berlin.

ESPOSITO, S.A., HUYBRECHTS, B., SLAGMOLEN, P., COTTI, E., COUCKE, W., PAUWELS, R., LAMBRECHTS, P., JACOBS, R., 2013, "A Novel Method to Estimate the Volume of Bone Defects Using Cone-Beam Computed Tomography: An In Vitro Study", *Journal of Endodontics*, v.39, pp.1111-1115.

EUROPEAN STANDARD, EN 14784-1, 2004, "Non-destructive testing – Industrial computed radiography with storage phosphor imaging plates – part 1: classifications of systems". European Committee for Standardization

FELDKAMP, L.A., 1984, Practical cone-beam algorithm. *Josa* a. 1(6): 612-9.
CHESARIA CHOI JY, CHOI, C.A., YEO, I-S.L., 2018, Spiral scanning imaging and quantitative calculation of the 3-dimensional screw-shaped bone-implant interface on micro-computed tomography, *J Periodontal Implant Sci.* 48(4): 202-212.

FREITAS, J.V., BARATTO-FILHO, F., COELHO, B.S., TOMAZINHO, F.S.F., CROZETA, B.M., NETO, M.D.S., GABARDO, M.C.L., 2017, "Efficacy of different cone-beam

computed tomography protocols in the identification of mesiobuccal canals of maxillary first molars: a tomographic and ex vivo study", *Journal of Endodontics*, v.43, n.5, pp. 810-815.

GAMBILL, J.M., ALDER, M., DEL RIO, C.E., 1996, Comparison of nickel-titanium and stainless steel hand-file instrumentation using computed tomography. *Journal of Endodontics* v. 22: pp. 369-375.

GAO, Y., PETERS, O.A., HONGKUN, W., ZHOU, X., 2009, "An application framework of three-dimensional reconstruction and measurement for endodontic research". *Journal of Endodontics*, v. 35, pp. 269-274.

GEKELMAN, D., RAMAMURTHY, R., MIRFARSI, S., PAQUÉ, F., PETERS, O.A., 2009, "Rotary nickel-titanium GT and protaper files for root canal shaping by novice operators: a radiographic and micro-tomography evaluation". *Journal of Endodontics*, v. 35, pp. 1584-1588.

GREEN, D., 1960, Stereomicroscopic study of 700 root apices of maxillary and mandibular posterior teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* v. 13: pp. 728-733.

GU, L., WEI, X., LING, J., HUANG, X., 2009, "A Microcomputed Tomographic Study of Canal Isthmuses in the Mesial Root of Mandibular First Molars in a Chinese Population", *Journal of Endodontics*, v. 35: 3; pp. 353-356.

GU, Y-C., 2011, "A Micro-Computed Tomographic Analysis of Maxillary lateral incisors with radicular grooves", *Journal of Endodontics*, v. 37, pp. 789-792.

GU, Y-C., ZHANG, Y-P., LIAO, Z-G., FEI, X-D., 2013, "A Micro-Computed Tomographic Analysis of Wall Thickness of C-shaped Canals in Mandibular First Premolars", *Journal of Endodontics*, v. 39: 8; pp. 973-976.

GUI, J., ZOU, J., RONG, J., HU, Z., ZHANG, Q., ZHENG, H., XIA, D., 2012, "Investigation of the effect of tube voltage and imaging geometry on phase contrast imaging for a micro-CT system", *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A*, v. 669, pp.97-102.

HASEGAWA, B. H., 1991. *The physics of X-ray imaging*. Madison, Medical Physics Publishing.

HESS, W., 1925, *Anatomy of root canals of the teeth of the permanent dentition*. Willian Wood & Co: New York, EUA. Apud: DE DEUS, Q.D., 1992, *Topografia da cavidade pulpar e periápice*. In: De Deus QD. *Endodontia*. 5a ed., Rio de Janeiro: MEDSI, 11-64.

INGLE, J.I., Beveridge, E.E., 1976, "Endodontics". 2^a Ed., Philadelphia: Lea & Febiger. 745p.

JUDY, P. F., 1976, "The line spread function and modulation transfer of a computed tomographic scanner", Medical Physics, v. 3, n. 4, pp. 233-236.

JUN, L.I., LING, L.I., YIHUAI, P.A.N., 2013, "Anatomic Study of the Buccal Root with Furcation Groove and Associated Root Canal Shape in Maxillary First Premolars by Using Micro-Computed Tomography", Journal of Endodontics, v. 39: 2; pp. 265-268.

KATSEVICH, A., 2002, SIAM Journal on Applied Mathematics. 62(6): 2012-26

KETCHAM, R.A., CARLSON, W.D., 2001, " Acquisition, optimization and interpretation of X-ray computed tomographic imagery: applications to the geosciences", Computers & Geosciences, v. 27, pp. 381-400.

KIM, Y., CHANG, S.W., LEE, J.K., CHEN, I.P., KAUFMAN, B., JIANG, J., CHA, B.Y., 2013, "A micro-computed tomography study of canal configuration of multiple-canal mesibuccal root of maxillary first molar". Clin Oral Invest 17:1541-1546.

LANDIS, E.N., KEAVE, D.T., 2010, "X-ray microtomography", Material Characterization, v. 61, pp. 1305-1316.

LI, J., LI, L., PAN, Y., 2013, "Anatomic Study of the Buccal Root with Furcation Groove and Associated Root Canal Shape in Maxillary First Premolars by Using Micro-Computed Tomography", Journal of Endodontics, v. 39, pp. 265-268.

LIMA, I., 2002, Quantificação histomorfométrica 2D a partir de tomografia computadorizada 3D. Dissertação de mestrado. Programa de Engenharia Nuclear, UFRJ/COPPE.

LIMA, I., 2006, Caracterização de estruturas internas ósseas através das técnicas de microtomografia computadorizada tridimensional e fluorescência de raios X. Tese de Doutorado. Programa de Engenharia Nuclear, UFRJ/COPPE.

LOPES, R.T., 1988, "Tomografia computadorizada em testes não destrutivos". Tese de Doutorado, COPPE/UFRJ.

LOPES, R.T., RODRIGUES, J.L., DE ASSIS, J.T., DE JESUS, E.F., DE OLIVEIRA, L.F., 1997, "Evaluation of a microtomography system with an x-ray microfocus tube", Appl Radiat Isot v. 48, pp. 1437-1442.

LUND, H., GRÖNDAHL, K., GRÖNDAHL, H-G., 2009, "Accuracy and precision of linear measurements in cone beam computed tomography Accuitomo tomograms obtained

with different reconstruction techniques", *Dento maxillo facial radiology*, v.38, pp. 379-86

MACHADO, A.C., OLIVEIRA, T.J.I., CRUZ, F.B., LOPES, R.T., LIMA, I., 2014, "Porous media investigation before and after hydrochloric acid injection on a pre-salt carbonate coauinas sample", *Applied Radiation and Isotopes*, v.110, pp.160-163.

MACHADO, A.S., 2015, "Controlo de qualidade em tomografia computadorizada", M.Sc., Dissertação, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal.

MADARATI, A.A., QUALTROUGH, A.J.E., WATTS, D.C., 2009, "A Microcomputed Tomography Scanning Study of Root Canal Space: Changes after the Ultrasonic Removal of Fractured Files", *Journal of Endodontics*, v. 35, Number 1.

MANNOCCI, F., PERU, M., SHERRIFF, M., COOK, R., PIIT FORD, T., 2005, "The isthmuses of mesial root of mandibular molars: a micro-computed tomographic study". *Int Endod J* v. 38, pp. 558-563.

MUDRY, K.M., PLONSEY, R., BRONZINO, J.D., 2003, "Computed Tomography". *Principles and Applications in Engineering Series Biomedical Imaging*. 2, Chapter 9, Boca Raton, USA, CRC press LLC.

NABEL, E., HEIDT, H., STADE, J., 1986, Comparison of microfocus x-rays units. *Brit J Nondestr Test* v. 28: pp. 133-153.

NEAVERTH, E.J., KOTLER, L.M., KALTENBACH, R.F., 1987, Clinical investigation (in vivo) of endodontically treated maxillary first molars. *Journal of Endodontics* v. 13: pp. 506-512.

NEELAKANTAN, P., SUBBARAO, C., SUBARAO, C.V., 2010, "Comparative evaluation of modified canal staining and clearing technique, cone-beam computed tomography, peripheral quantitative computed tomography, spiral computed tomography, and plain and contrast medium-enhanced digital radiography in studding root canal morphology". *Journal of Endodontics*, v. 36, pp. 1547-1551.

NIELSEN, R.B., ALYSSIN, A.M., PETERS, D.D., CARNES, D.L., LANDCASTER, J.L., 1995, "Microcomputer tomography: an advanced system for detailed endodontic research". *Journal of Endodontics*, v. 21, pp. 561-568.

OGÊ, M.F., HUGO, V.N., 1999, "Processamento Digital de Imagens", Rio de Janeiro: Brasport, 1999. ISBN 8574520098.

OLIVEIRA, M.F.S., 2012, "Avaliação de meios geológicos porosos por técnicas atômicas e nucleares". Tese (doutorado) - Programa de Pós-graduação em Engenharia Nuclear, COPPE, UFRJ. 149p.

PADGETT, R., KOTRE. C. J., 2004, "Assessment of the effects of pixel loss on image quality in direct digital radiography", *Physics In Medicine and Biology*, v. 49, pp. 977-986.

PAQUÉ, F., BOESSLER, C., ZEHNDER, M., 2011, "Accumulated hard tissue debris levels in mesial roots of mandibular molars after sequential irrigation steps", *International Endodontic Journal*, v. 44, pp. 148–153.

PAQUÉ, F., GANAHL, D., PETERS, A.O., 2009, "Effects of root canal preparation on apical geometry assessed by micro-computed tomography". *Journal of Endodontics*, v. 35, pp. 1056-1059.

PAQUÉ, F., RECHENBERG, D., ZEHNDER M., 2012, "Reduction of hard-tissue debris accumulation during rotary root canal instrumentation by etidronic acid in sodium hypochlorite irrigant". *Journal of Endodontics*, v. 38, pp. 692-695.

PAQUÉ, F., ZEHNER, M., MARENDING, M., 2010, "Apical fit of initial k-files in maxillary molars assessed by micro-computed tomography". *International Endodontic Journal* v. 43, pp. 328-335.

PARK, J., LEE, J., HA, B., CHOI, J., PRINPANAYAGAM, H., 2009, "Three-dimensional analysis of maxillary first molar mesiobuccal root canal configuration and curvature using micro-computed tomography". *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, v. 108, pp. 437-442.

PATEL, S., DAWOOD, A., WHAITES, E., 2009, New dimensions in endodontic imaging: part 1. Conventional and alternative radiographic systems. *Int Endod J* 42: 447– 462.

PAUWELS, R., ARAKI, K., SIEWERDSEN, J.H., THONGVIGITMANEE, S.S., 2015, "Technical aspects of dental CBCT: state of the art", *Dentomaxillofacial Radiology*, v.44, pp.20140224.

PAUWELS, R., SEYNAEVE, L., HENRIQUES, J., DE OLIVEIRA-SANTOS, C., SOUZA, P.C., WESTPHALEN, F.H., RUBIRA-BULLEN, I.R.F., RIBEIRO-ROTTA, R.F., ROCKENBACH, M.I.B., HAITER-NETO, F., PITTAYAPAT, P., BOSMANS, H., BOGAERTS, R., JACOBS, R., 2015, "Optimization of dental CBCT exposures through mAs reduction", *Dentomaxillofacial Radiology*, v. 44: 9; pp. 20150108.

PAUWELS, R., SILKOSESSAK, O., JACOBS, R., BOGAERTS, R., BOSMANS, H., PANMEKIATE, S., 2014, "A pragmatic approach to determine the optimal kVp in cone

beam CT: balancing contrast-to-noise ratio and radiation dose", *Dento maxillo facial radiology*, v. 43, pp. 2014-0059.

PETERS, O.A., LAIB, A., GÖHRING, T.N., BARBAKOW, F., 2001, Changes in root canal geometry after preparation assessed by high-resolution computed tomography. *J Endod* 27: 1-6.

PETERS, O.A., LAIB, A., RÜEGSEGG, P., BARBAKOW, F., 2000, "Three dimensional analysis of root canal geometry by high-resolution computed tomography". *J Dent Res* 79:1405-1409.

PETERS, O.A., PAQUÉ, F., 2011, "Root canal preparation of maxillary molars with the self-adjusting file: a micro-computed tomography study", *Journal of Endodontics*, v. 37, pp. 53-57.

PEYRIN, F., DONG, P., PACUREANU, A., LANGER, M., 2014, "Micro- and Nano-CT for the study of bone ultrastructure", *Curr Osteoporos Rep*, v. 12, pp. 465-474.

POMERANZ, H.H., FISHELBERG, G., 1974, The secondary mesiobuccal canal of maxillary molars. *J Am Dent Assoc* 88: 119-124.

RHODES, J.S., FORD, T.R., LYNCH, J.Á., LIEPINS, P.J., CURTIS, R.V., 2000, "A comparison of two nickel-titanium instrumentation techniques in the teeth using microcomputed tomography", *International Endodontic Journal*, v. 33, pp. 279-285.

ROBINSON, J.P., LUMLEY, P.J., CLARIDGE, E., COOPER, P.R., GROVER, L.M., WILLIAMS, R.L., WALMSLEY, A. D., 2012, "An analytical Micro CT methodology for quantifying inorganic dentine debris following internal tooth preparation", *Journal of Dentistry* v. 40, pp. 999–1005.

ROMANS, L., 2013, CT image quality. *CEwebsites.com* 15: 1-6.

RUSS, J.C., NEAL F.B., 2017, "The Image Processing Handbook" 7th, CRC Press, Inc. Boca Raton, FL, USA ©2015, ISBN:149874026X 9781498740265.

SALMON, P.L., BUELENS, E., SASOV, A.Y., 2003, "Performance of in vivo micro-CT analysis of mouse lumbar vertebral and knee trabecular bone architecture", *J Bone Miner Res*, v. 18, s.2, pp. 256.

SANTOS, B.C, 2012, "Estudo da anatomia interna da raiz méso-vestibular de molares superiores através de microtomografia computadorizada", *Dissertação (mestrado) - Universidade Estácio de Sá - Rio de Janeiro*.

SCARFE, W.C., FARMAN, A.G., SUKOVIC, P., 2006, Clinical applications of cone-beam computed tomography in dental practice. *J Can Dent Assoc* 72: 75–80.

- SCHULZE, R., HEIL, U., GROSS, D., BRUELLMANN, D.D., DRANISCHNIKOW, E., SCHWANECKE, U., SCHOEMER, E., 2011, "Artefacts in CBCT: a review", *Dento maxillo facial radiology*, v. 40, pp.265-73.
- SIDDIQUI, S., KHAMEES, A.A., 2004. "Dual-Energy CT-Scanning Applications in Rock Characterization". In: *Proceedings of the SPE Annual Technical Conference and Exhibition*", pp. 1-9, Houston.
- SIQUEIRA, J.F.JR., RÔÇAS, I.N., 2008, "Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures", *Journal of Endodontics*, v. 34, pp. 1291-1301.
- SKIDMORE, A.E., BJORN DAL, A.M., 1971, Root canal morphology of the human mandibular first molar. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 32: 778-784.
- SOMMA, F., LEONI, D., PLOTINO, G., GRANDE, N.M., PLASSCHAERT, A., 2009, "Root canal morphology of the mesiobuccal root of maxillary first molars: a micro-computed tomographic analysis", *International Endodontic Journal*, v. 42, pp. 165-174.
- STOCKS, S.R., 1999, "X-ray microtomography of materials", *International Materials Reviews*, v. 44, n. 4, pp. 141-164.
- TACHIBANA, H., MATSUMOTO, K., 1990, Applicability of X-ray computerized tomography in endodontics. *Endod Dent Traumatol* 6: 16-20.
- TAYLOR, C., 2016, "Evaluation of the effects of positioning and configuration on contrast-to-noise ratio in the quality control of a 3D Accuitomo 170 dental CBCT system", *Dentomaxillofacial Radiology*, v.45: 5; pp.20150430.
- TELES, A.P, 2016, *Aplicação da Microtomografia Computadorizada de Raios X por Dupla-Energia na Caracterização de Materiais Porosos*", Tese (doutorado) – UFRJ/ COPPE/ Programa de Engenharia Nuclear – Rio de Janeiro.
- TROPE, M., ELFENBEIN, L., TRONSTAD, L., 1986, Mandibular premolars with more than one root canal in different race groups. *J Endod* 12: 343-345.
- VANNIER, M.W., 2003, Craniofacial computed tomography scanning - technology, applications and future trends. *Orthod Craniofac Res* 6: 23–30.
- VERMA, P., LOVE, R.M., 2011, "A Micro CT study of the mesiobuccal root canal morphology of the maxillary first molar tooth", *International Endodontic Journal*, v. 44, pp. 210–217.

VIDAL, F., ASSIS, J.T., LOPES, R.T., LIMA, I., 2014, "2D/3D quantification of bone morphometric parameter changes using X-ray microtomography with different pixel sizes", *Radiation Physics and Chemistry*, v.95, pp. 227-229.

VILLORIA, E.M., LENZI, A.R., SOARES, R.V., SOUKI, B.Q., SIGURDSSON, A., MARQUES, A.P., FIDEL, S.R., 2017, "Post-processing open-source software for the CBCT monitoring of periapical lesions healing following endodontic treatment: technical report of two cases", *Dentomaxillofacial Radiology*, v. 46, 20160293.

WELLER, R.N., HARTWELL, G.R., 1989, The impact of improved access and searching techniques on detection of the mesiolingual canal in maxillary molars. *J Endod* 15: 82-83.

WILDENSCHILD, D., SHEPPARD, A. P., 2013, "X-ray imaging and analysis techniques for quantifying pore-scale structure and processes in subsurface porous medium systems", *Advances in Water Resources*, v.51, pp. 217-246.

YOUNG, I. T., GERBRANDS, J. J., VAN VLIET, L. J., 1995, "Noise". *Fundamentals of Image Processing*, Chapter 6, Delft, Holanda, Delft University of Technology.

ZASLANSKY, P., FRATZL, P., RACK, A., WU, M-K., WESSELINK, P.R., SHEMESH, H., 2011, Identification of root filling interfaces by microscopy and tomography methods", *International Endodontic Journal*, v.44, pp.395-401.

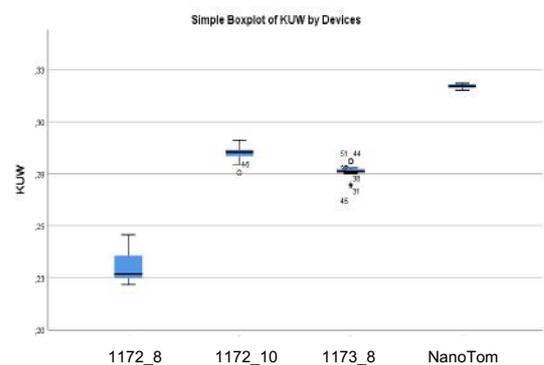
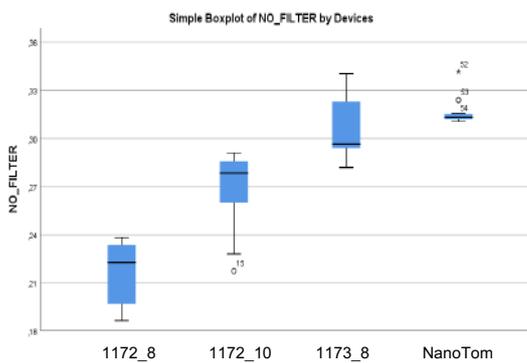
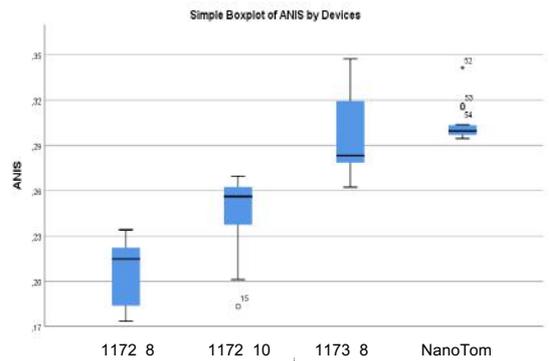
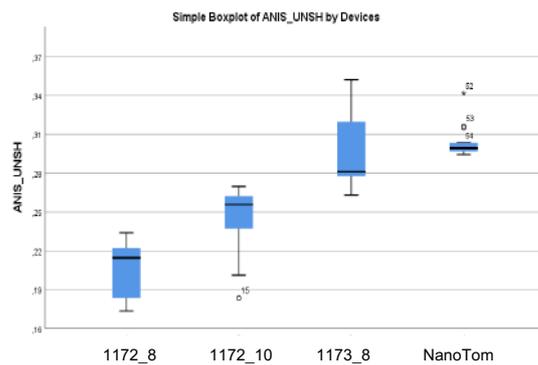
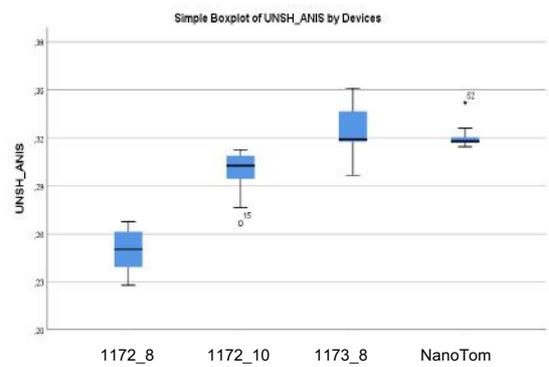
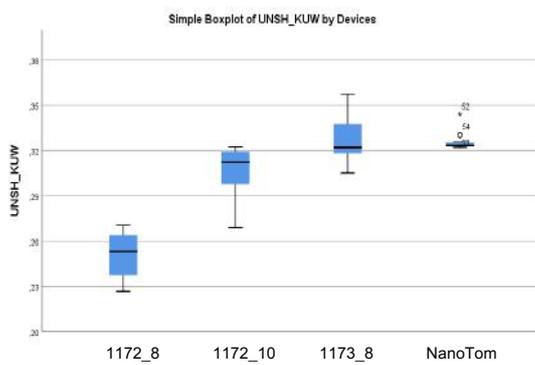
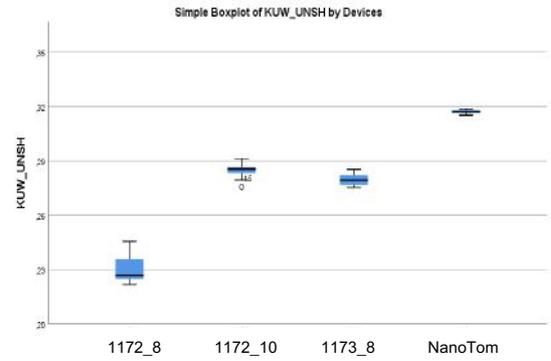
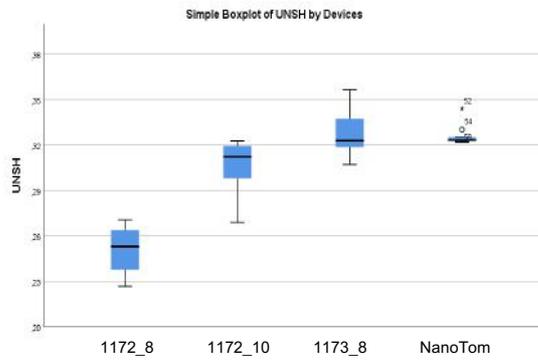
ZASLANSKY, P., ZABLER, S., FRATZL, P., 2010, "3D variations in human crown dentin tubule orientation: A phase-contrast microtomography study", *Dental Materials*, v.26, pp. e1-e10.

ZHANG, D., CHEN, J., LAN, G., LI, M., AN, J., WEN, X., LIU, L., DENG, M., 2017, "The root canal morphology in mandibular first premolars: a comparative evaluation of cone-beam computed tomography and micro-computed tomography", *Clinical Oral Investigations*, v.21, pp.1007-1012

ANEXOS

Anexo 1: Análise estatística

Volume do SCR após uso dos diferentes algoritmos de filtragem, separados por equipamento utilizado.



Anexo 2 : Análise estatística SNR

Sample 1-Sam...	Test Statistic	Std. Error	Std. Test Statistic	Sig.	Adj.Sig.
1-2	-27.130	12.027	-2.256	.024	.506
1-3	-60.722	12.027	-5.049	.000	.000
1-4	-67.926	12.027	-5.648	.000	.000
2-3	-33.593	12.027	-2.793	.005	.110
2-4	-40.796	12.027	-3.392	.001	.015
3-4	-7.204	12.027	-.599	.549	1.000

Análise estatística SNR grupo 1172_8W. Energias:
 1 – 40 kV / 200 μ A
 2 – 50 kV / 160 μ A
 3 – 60 kV / 133 μ A
 4 – 70 kV / 114 μ A

Sample 1-Sam...	Test Statistic	Std. Error	Std. Test Statistic	Sig.	Adj.Sig.
1-2	-40.546	18.027	-2.249	.025	.515
1-6	-41.546	18.027	-2.305	.021	.445
1-3	-66.778	18.027	-3.704	.000	.004
1-5	-73.472	18.027	-4.076	.000	.001
1-4	-84.769	18.027	-4.702	.000	.000
2-6	-1.000	18.027	-.055	.956	1.000
2-3	-26.231	18.027	-1.455	.146	1.000
2-5	-32.926	18.027	-1.826	.068	1.000
2-4	-44.222	18.027	-2.453	.014	.297
6-3	25.231	18.027	1.400	.162	1.000
6-5	31.926	18.027	1.771	.077	1.000
6-4	43.222	18.027	2.398	.017	.347
3-5	-6.694	18.027	-.371	.710	1.000
3-4	-17.991	18.027	-.998	.318	1.000
5-4	11.296	18.027	.627	.531	1.000

Análise estatística SNR grupo 1172_10W. Energias:
 1 – 50 kV / 200 μ A
 2 – 60 kV / 167 μ A
 3 – 70 kV / 142 μ A
 4 – 80 kV / 124 μ A
 5 – 90 kV / 112 μ A
 6 – 100 kV / 100 μ A

Sample 1-Sam...	Test Statistic	Std. Error	Std. Test Statistic	Sig.	Adj.Sig.
1-2	-54.435	21.028	-2.589	.010	.202
1-3	-113.213	21.028	-5.384	.000	.000
1-4	-150.648	21.028	-7.164	.000	.000
1-5	-197.407	21.028	-9.388	.000	.000
1-6	-232.963	21.028	-11.079	.000	.000
1-7	-247.472	21.028	-11.769	.000	.000
2-3	-58.778	21.028	-2.795	.005	.109
2-4	-96.213	21.028	-4.576	.000	.000
2-5	-142.972	21.028	-6.799	.000	.000
2-6	-178.528	21.028	-8.490	.000	.000
2-7	-193.037	21.028	-9.180	.000	.000
3-4	-37.435	21.028	-1.780	.075	1.000
3-5	-84.194	21.028	-4.004	.000	.001
3-6	-119.750	21.028	-5.695	.000	.000
3-7	-134.259	21.028	-6.385	.000	.000
4-5	-46.759	21.028	-2.224	.026	.550
4-6	-82.315	21.028	-3.915	.000	.002
4-7	-96.824	21.028	-4.605	.000	.000
5-6	-35.556	21.028	-1.691	.091	1.000
5-7	-50.065	21.028	-2.381	.017	.363
6-7	-14.509	21.028	-.690	.490	1.000

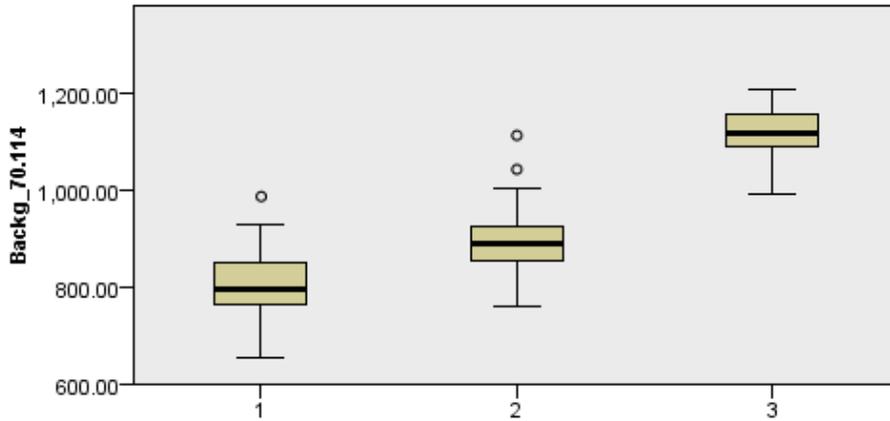
Análise estatística SNR grupo 1173_8W. Energias:
1 – 40 kV / 200 µA
2 – 45 kV / 183 µA
3 – 50 kV / 160 µA
4 – 55 kV / 145 µA
5 – 60 kV / 133 µA
6 – 65 kV / 123 µA
7 - 70 kV / 114 µA

Sample 1-Sam...	Test Statistic	Std. Error	Std. Test Statistic	Sig.	Adj.Sig.
1-2	-53.389	15.028	-3.553	.000	.008
1-3	-107.213	15.028	-7.134	.000	.000
1-4	-172.315	15.028	-11.467	.000	.000
1-5	-201.065	15.028	-13.380	.000	.000
2-3	-53.824	15.028	-3.582	.000	.007
2-4	-118.926	15.028	-7.914	.000	.000
2-5	-147.676	15.028	-9.827	.000	.000
3-4	-65.102	15.028	-4.332	.000	.000
3-5	-93.852	15.028	-6.245	.000	.000
4-5	-28.750	15.028	-1.913	.056	1.000

Análise estatística SNR grupo NanoTom_15W. Energias:

- 1 – 50 kV / 300 μ A
- 2 – 60 kV / 250 μ A
- 3 – 70 kV / 214 μ A
- 4 – 80 kV / 188 μ A
- 5 – 90 kV / 167 μ A
- 6 – 100 kV / 100 μ A

Independent-Samples Kruskal-Wallis Test



Análise estatística SNR grupo
Energia 70 kV / 114 μ A.

Aparelhos:

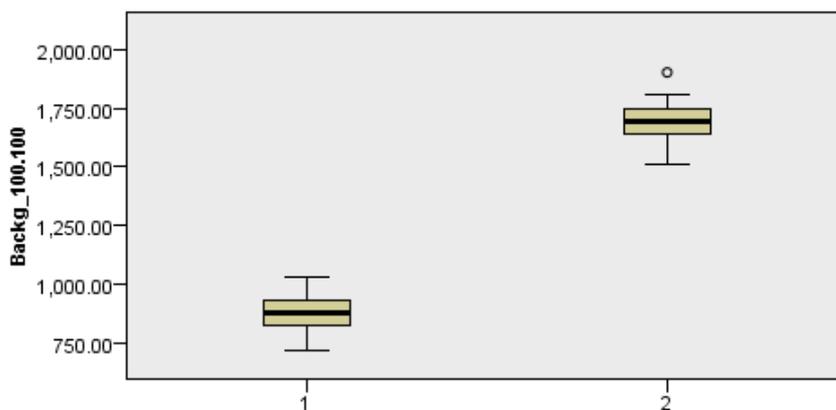
1 – 1172

2 – 1173

3 – NanoTom

Sample 1-Sam...	Test Statistic	Std. Error	Std. Test Statistic	Sig.	Adj.Sig.
1-2	-37.472	9.028	-4.151	.000	.001
1-3	-98.944	9.028	-10.960	.000	.000
2-3	-61.472	9.028	-6.809	.000	.000

Independent-Samples Kruskal-Wallis Test



Análise estatística SNR grupo
Energia 100 kV / 100 μ A.

Aparelhos:

1 – 1172

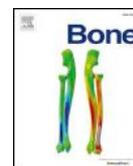
2 – NanoTom



Contents lists available at ScienceDirect

Bone

journal homepage: www.elsevier.com/locate/bone



Full Length Article

Alendronate improves bone density and type I collagen accumulation but increases the amount of pentosidine in the healing dental alveolus of ovariectomized rabbits



Niló Guliberto Martins Chavarry^a, Daniel Perrone^b, Maria Lucia Fleiuss Farias^c, Bernardo Camargo dos Santos^d, Andrea Castro Domingos^e, Alberto Schanaider^f, Eduardo Jorge Feres-Filho^{a,*}

^a Division of Graduate Periodontics, School of Dentistry, Federal University of Rio de Janeiro, RJ CEP 21941-971, Brazil

^b Laboratory of Nutritional Biochemistry and Food, Chemistry Institute, Federal University of Rio de Janeiro, RJ CEP 21941-909, Brazil

^c Division of Endocrinology, School of Medicine, Federal University of Rio de Janeiro, RJ CEP 21941-913, Brazil

^d Department of Nuclear Engineering (COPPE), School of Engineering, Federal University of Rio de Janeiro, RJ CEP 21941-972, Brazil

^e Department of Oral Pathology, Oral Radiology and Oral Diagnosis, School of Dentistry, Federal University of Rio de Janeiro, RJ CEP 21941-971, Brazil

^f Department of Surgery, School of Medicine, Federal University of Rio de Janeiro, RJ CEP 21941-913, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:
Osteoporosis
Bisphosphonate
Type I collagen
Pentosidine
Rabbits
HPLC

ABSTRACT

Background: It has been shown that the oral aminobisphosphonate sodium alendronate (ALN) therapy reduces the risk of main fractures in osteoporotic women, but its effect on the jaw bones is poorly known. Here, we hypothesized that ALN affects the newly formed alveolar bone, particularly the quality of the type I collagen cross-linking.

Methods: Osteoporosis was induced by ovariectomy (OVX) in 6-month old rabbits. Six weeks following surgery, eight animals were treated by oral gavage with ALN (OVX + ALN) and ten received placebo (OVX + Pbo). Another six rabbits which were sham operated also received placebo (SHAM + Pbo). One month following the beginning of treatment, the upper and lower left first premolars were removed. Six weeks later, the upper and the lower right first premolars were also extracted. One month after the second extraction, biopsies were collected from the maxillary extraction sites and collagen crosslinks were analyzed in the newly formed bone tissue by HPLC. Also, at this time, mandibular bone segments were subjected to μ CT.

Results: Animals treated with ALN achieved a roughly 2-time greater bone volume fraction value at a late healing period than animals in the other groups ($p < 0.05$). Collagen mean results were 2- to 4-times superior in the OVX + ALN group than in the control groups ($p < 0.05$).

ALN-treated animals presented higher amounts of the non-enzymatic collagen cross-link pentosidine (PEN) than the sham-operated rabbits ($p < 0.05$), whereas the OVX + Pbo group presented the highest amount of PEN ($p < 0.05$).

Conclusion: Alendronate increases bone volume and collagen accumulation, but does not fully rescue the non-osteoporotic alveolar tissue quality as is evident from the increased quantity of pentosidine.

1. Introduction

Osteoporosis is a progressive skeletal disorder characterized by reduction of bone mineral density (BMD) and degeneration of bone microarchitecture [1]. That results in bone fragility and fracture, which adversely impact the quality of life and boost the risk of infection and mortality [2]. Estrogen deficiency due to menopause is the main cause of bone loss in women and bisphosphonates (BPs) are the most

commonly prescribed class of drugs for its treatment by suppressing bone resorption [3]. These pharmacological agents can reduce the risk of fractures and the rate of mortality related to hip fracture by up to 30% and 60%, respectively [4,5]. Clinical studies in postmenopausal women showed that long-term use of those drugs resulted in persistent anti-fracture and BMD increasing effects beyond three years of treatment [6]. However, in the last decade there have been reports of a greater than before incidence of atypical femur fractures (AFFs)

* Corresponding author.

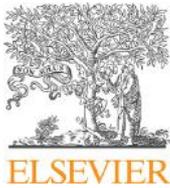
E-mail address: eduardoferes@odonto.ufrj.br (E.J. Feres-Filho).

<https://doi.org/10.1016/j.bone.2018.09.022>

Received 22 April 2018; Received in revised form 23 September 2018; Accepted 24 September 2018

Available online 30 September 2018

8756-3282/ © 2018 Elsevier Inc. All rights reserved.

Available online at www.sciencedirect.com

ScienceDirect

journal homepage: www.intl.elsevierhealth.com/journals/dema

Experimental tricalcium silicate cement induces reparative dentinogenesis

Xin Li^{a,b,1}, Mariano Simón Pedano^{a,1}, Bernardo Camargo^{a,c},
 Esther Hauben^d, Stéphanie De Vleeschauwer^e, Zhi Chen^b, Jan De Munck^a,
 Katleen Vandamme^a, Kirsten Van Landuyt^a, Bart Van Meerbeek^{a,*}

^a KU Leuven (University of Leuven), Department of Oral Health Sciences, BIOMAT & UZ Leuven (University Hospitals Leuven), Dentistry, Leuven, Belgium

^b Wuhan University, School and Hospital of Stomatology, Ministry of Education, The State Key Laboratory Breeding Base of Basic Science of Stomatology (Hubei-MOST) & Key Laboratory of Oral Biomedicine, Wuhan, PR China

^c Federal University of Rio de Janeiro, Nuclear Engineering Program, Rio de Janeiro, Brazil

^d Laboratory for Pathology, UZ Leuven & Department of Imaging and Pathology, Translational Cell and Tissue Research, KU Leuven, Leuven, Belgium

^e Laboratory Animal Center, KU Leuven, Leuven, Belgium

ARTICLE INFO

Article history:

Received 17 March 2018

Received in revised form

24 May 2018

Accepted 7 June 2018

Keywords:

Pulp capping

Tricalcium silicate cement

Minipig

Reparative dentin

ABSTRACT

Objectives. To overcome shortcomings of hydraulic calcium-silicate cements (hCSCs), an experimental tricalcium silicate (TCS) cement, named ‘TCS 50’, was developed. *In vitro* research showed that TCS 50 played no negative effect on the viability and proliferation of human dental pulp cells, and it induced cell odontogenic differentiation. The objective was to evaluate the pulpal repair potential of TCS 50 applied onto exposed minipig pulps.

Methods. Twenty permanent teeth from three minipigs were mechanically exposed and capped using TCS 50; half of the teeth were scheduled for 7-day and the other half for 70-day examination (n = 10). Commercial hCSCs ProRoot MTA and TheraCal LC were tested as references (n = 8). Tooth discoloration was examined visually. After animal sacrifice, the teeth were scanned using micro-computed tomography; inflammatory response at day 7 and day 70, mineralized tissue formation at day 70 were assessed histologically.

Results. Up to 70 days, TCS 50 induced no discoloration, ProRoot MTA generated gray/black discoloration in all teeth. For TCS 50, 40.0% pulps exhibited a mild/moderate inflammation at day 7. No inflammation was detected and complete reparative dentin with tubular structures was formed in all pulps after 70 days. ProRoot MTA induced a similar response, TheraCal LC generated a less favorable response in terms of initial inflammation and reparative dentin formation; however, these differences were not significant (Chi-square test of independence: p > 0.05).

Significance. TCS 50 induced reparative dentinogenesis in minipig pulps. It can be considered as a promising pulp-capping agent, also for aesthetic areas.

© 2018 The Academy of Dental Materials. Published by Elsevier Inc. All rights reserved.

* Corresponding author at: KU Leuven (University of Leuven), Department of Oral Health Sciences, BIOMAT, Kapucijnenvoer 7, blok a — box 7001, BE-3000 Leuven, Belgium.

E-mail address: bart.vanmeerbeek@kuleuven.be (B. Van Meerbeek).

¹ Equal first-author contribution.

<https://doi.org/10.1016/j.dental.2018.06.016>

0109-5641/© 2018 The Academy of Dental Materials. Published by Elsevier Inc. All rights reserved.

Influence of Heat Treatment of Nickel-Titanium Rotary Endodontic Instruments on Apical Preparation: A Micro–Computed Tomographic Study

Bernardo Corrêa de Almeida, DDS, MSc,* Fabíola Ormiga, DDS, MSc, DSc,*
 Marcos César Pimenta de Araújo, DDS, MSc, DSc,* Ricardo Tadeu Lopes, DSc,[†]
 Inayá Corrêa Barbosa Lima, DSc,[†] Bernardo Camargo dos Santos, DDS, MSc,[†]
 and Heloisa Gusman, DDS, DSc*

Abstract

Introduction: The aim of this study was to make a 3-dimensional comparison of the canal transportation and changes in apical geometry using micro–computed tomographic imaging after canal preparation with K3 (SybronEndo, Orange, CA) and K3XF (SybronEndo) file systems. **Methods:** Twenty-eight mandibular molars were randomly divided into 2 groups according to the rotary system used in instrumentation: K3 or K3XF. The specimens were scanned by micro–computed tomographic imaging before and after instrumentation. Images before and after instrumentation from each group were compared with regard to canal volume, surface area, and structure model index (SMI) (paired *t* test, $P < .05$). After instrumentation, the canals from each group were compared regarding the changes in volume, surface area, SMI, and canal transportation in the last 4 apical mm (*t* test, $P < .05$). **Results:** Instrumentation with the 2 rotary systems significantly changed the canal volume, surface area, and SMI ($P < .05$). There were no significant differences between instrument types concerning these parameters ($P > .05$). There were no significant differences between the 2 groups with regard to canal transportation in the last 4 apical mm ($P > .05$). **Conclusions:** Both rotary systems showed adequate canal preparations with reduced values of canal transportation. Heat treatment did not influence changes in root canal geometry in the apical region. (*J Endod* 2015;41:2031–2035)

Key Words

Canal transportation, heat treatment, micro–computed tomography, nickel-titanium instrument

Cleaning and shaping the root canal system are essential to achieving clinical success in endodontic treatment (1). Mechanical preparation should maintain the original pathway and anatomy of the root canal (2). Mainly because of its anatomic complexity, the apical third is the region most susceptible to accidents such as apical transportation, ledge formation, and perforations during instrumentation (3, 4). The cross-sectional geometry, mechanical properties, and the size of the endodontic instrument are important factors that contribute to transportation of the root canal (5–7).

The introduction of endodontic files made of nickel-titanium (NiTi) alloy significantly increased the quality of canal preparation and reduced the number of sessions and the risk of errors during endodontic treatment (8, 9). NiTi instruments show greater flexibility, which allows a safer and more precise preparation, when compared with traditional stainless steel instruments (10).

To improve the mechanical properties of NiTi endodontic instruments, advances in the production process have been proposed, such as heat treatment of the alloy before or after the manufacturing process (11–13). The aim of this treatment is to modify the phase transition temperatures of the alloy to reduce the stress level on the superelastic plateau (8, 9, 12). As a result, the heat treatment allows the manufacture of more flexible and resistant instruments, which generate lower stress levels during canal preparation (14, 15).

With the advancements in the thermomechanical process developed in recent years, different types of heat treatment have been used for manufacturing endodontic files (14), leading to alloys such as R-phase alloy of K3XF (SybronEndo, Orange, CA) and Twisted Files (SybronEndo); the CM Wire of HyFlex CM Instruments (Coltene Whaledent, Cuyahoga Falls, OH) and Typhoon Infinite Flex NiTi files (Clinician's Choice Dental Products, New Milford, CT); and the M-Wire alloy of WaveOne (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland), Vortex (Dentsply Tulsa Dental, Tulsa, OK), Reciproc (VDW, Munich, Germany), ProTaper Next (Dentsply Tulsa Dental), and ProFile GT Series X files (Dentsply Tulsa Dental).

Several studies have investigated the ability of different endodontic NiTi instrument systems to maintain the original canal pathway during root canal preparation (5, 6, 16–22). However, there is no consensus on the ability to maintain a centralized preparation when heat-treated files are compared with conventional NiTi instruments (6, 23). These studies often compare instruments with different geometries, dimensions, kinematics, and file sequences, which makes it difficult to evaluate the real influence of the alloy on the centering ability during canal preparation.

From the *Department of Dental Clinic and [†]Nuclear Instrumentation Laboratory, Federal University of Rio de Janeiro, Centro de Tecnologia, Ilha da Cidade Universitária, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.

Address requests for reprints to Dr Heloisa Gusman, Rua Prof Rodolpho Paulo Rocco 325/2° Andar, Ilha da Cidade Universitária, Rio de Janeiro 21941-913, Brazil.

E-mail address: heloisagusman@gmail.com

0099-2399/\$ - see front matter

Copyright © 2015 American Association of Endodontists.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2015.09.001>



The Influence of Dentin Age and the Presence of Cracks in Removal of the Root Filling Material

Lilian Rachel de Lima About^a, Ricardo Tadeu Lopes^b, Bernardo Camargo dos Santos^b, Thaís Maria Pires dos Santos^b, Leonardo About Costa Viana^a, Miriam F Zaccaro Scelza^{a*}

^a Department of Endodontics, Fluminense Federal University (UFF), Brazil; ^b Department of Nuclear Energy, Federal University of Rio de Janeiro (UF RJ), Brazil

ARTICLE INFO

Article Type: Original Article

Received: 19 Jan 2018

Revised: 04 May 2018

Accepted: 16 May 2018

Doi: 10.22037/iej.v13i3.20291

*Corresponding author: Miriam F Zaccaro Scelza, Department of Endodontics, Fluminense Federal University (UFF), Brazil, Zipe cod 2402140.

Tel: +55-21 999840270

E-mail: scelza@terra.com.br

ABSTRACT

Introduction: This study evaluated the removal of the filling material during endodontic retreatment considering the presence of cracks and the dentin age. **Methods and Materials:** A total of 20 freshly extracted single-rooted teeth were categorized into the following two groups according to the age of the patients: Group Young (Y; aged 18-30 years) and Group Old (O; aged ≥ 60 years). Each tooth specimen was scanned by microcomputed tomography (micro-CT) subsequently after endodontic retreatment with the Reciproc instruments (REC). The images were analyzed for differences in the volume of dentin cracks and the presence of the filling material in the middle and apical thirds of the teeth among the groups, according to the dentin age. **Results:** The micro-CT images showed that after retreatment, there were more cracks in the old root dentin than those in the young root dentin, although the difference was not statistically significant ($P > 0.05$). The greatest reduction in the filling material was achieved when the old root dentin with cracks was retreated when compared with that of the young root dentin with cracks, but the difference was not statistically significant ($P > 0.05$). **Conclusion:** The dentinal age and the presence of cracks were not found to be relevant factors for the removal of the filling material.

Keywords: Dentin; Microcomputed Tomography; Retreatment

Introduction

Non-surgical endodontic retreatment can be indicated in case of treatment failures [1, 2]. Efficiency in the removal of the filling material from the interior part of the root canal and the preservation of the dentin structure are fundamental for successful retreatment [3]. However, it is known that dentin undergoes modifications with age, especially dehydration. The old dentin is less hydrated than the young dentin, which contributes to the development of cracks on the dentinal surface that can lead to endodontic failure [4, 5].

Several techniques involving the use of solvents, heat, mechanical instruments, and combinations of different methods can be used for the removal of the filling material [6]. Reciprocating instruments have been widely used for this purpose as they appear to cause less damage to the dentin

structure [7, 8]. The use of reciprocating instruments has been considered as the most rapid method for removing gutta-percha and sealer when compared with rotating files [9-11] besides extruding less apical debris [12]. The Reciproc system uses a single file and has been selected because of its flexibility due to the fact that the system is made up of M-Wire nickel-titanium alloy subjected to thermal treatment with an S-shaped cross-section, which can reduce the incidence of cracks when compared with the rotary system [13, 14]. However, the behavior of this type of file has not yet been analyzed, taking into account the dentinal age factor.

The dentin structure and the removal of the filling material from the interior parts of the root canal have been analyzed through image analysis using stereomicroscopy, optical microscopy, electronic microscopy, conventional tomography and x-rays. However, microcomputed tomography (micro-CT)



Effect of Aging on Dentinal Crack Formation after Treatment and Retreatment Procedures: a Micro-CT Study

¹UFF – Universidade Federal Fluminense Niterói, RJ, Brazil
²UFRJ Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

Correspondence: Miriam Fátima Zaccaro Scelza, Rua Mario Santos Braga, 30, 24020-140 Niterói, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. Tel: + 55-21-2629-9835. e-mail: scelza@terra.com.br

Lilian Rachel de Lima Aboud¹, Bernardo Camargo dos Santos², Ricardo Tadeu Lopes², Leonardo Aboud Costa Viana¹, Miriam Fátima Zaccaro Scelza¹

In order to evaluate the volume of dentinal cracks taking into account the age of the dentin and the type of file system used for endodontic procedures, forty freshly extracted single-rooted lower incisors presenting similar root volume, were divided into two groups according to the age of the patient: Group Young (18 - 30 years old) and Group Old (60 years old or more). Each specimen was scanned by microcomputed tomography (micro-CT) in three stages: (i) before any treatment, (ii) after endodontic treatment with Reciproc files (REC), and (iii) after subsequent endodontic retreatment. Each group was subdivided into two subgroups, according to the retreatment technique used: retreatment with REC or with ProTaper Universal Retreatment (PUR) files. For each subgroup, the images were analyzed for differences in the volume of dentinal cracks in the middle and apical thirds of the teeth, according to the dentin age. In both stages (before and after instrumentation), the micro-CT images of the old root dentin presented with higher volume of cracks than those of the young root dentin, statistical significance notwithstanding ($p > 0.01$). The use of REC files appeared to have no statistically significant differences in the generation of cracks in any type of root dentin when compared with PUR files ($p > 0.01$). When retreated with PUR, the old root dentin presented with a significantly higher volume of cracks ($p < 0.01$) when compared with the old root dentin initially.

Key Words: dentinal age, dentinal volume cracks, microcomputed tomography, reciprocating files, rotary files

Introduction

It is well known that the human dentin undergoes various modifications, such as decrease in the number and size of dentinal tubule with age (1), thereby lowering the incidence of bacterial infections in the tubules (2). The young hydrated dentin presents with certain mechanisms that contribute to the dissipation of energy and resistance to the development of cracks on the surface, a feature that is absent in the aged dentin, as the crack resistance of human dentin decreases with tissue age and dehydration (3,4). Therefore, studies on the effect of different types of endodontic procedures on the dentin, according to dentinal age, would be relevant in daily clinical practice.

Dentinal cracks may occur due to the amount of dentin removed during endodontic treatment and retreatment procedures. Moreover, different files systems, with various tapers, cutting blades and tip configurations, including manual, rotary and reciprocating motion instrumentation, are used. Several studies have reported that manual and reciprocating motion instruments can generate cracks, but on a smaller scale when compared with the rotating files (5-7).

In the case of endodontic retreatment, researchers reported the incidence of crack formation and propagation after the procedure with manual, rotational and reciprocating instruments. The behavior of rotational and

reciprocating systems in the generation of defects has been the point of greatest interest in these studies (8-12).

Different microscopy methods have been used to analyze dentinal defects (9). Microcomputed tomography (micro-CT) imaging provides accurate details of defects in dentin at high-resolution (9,10). Regardless of the type of instrumentation, this technique can depict the generation and amount of crack formation after endodontic treatment and retreatment, thus providing a clear insight into how the different files, techniques and systems used can influence endodontic success or failure (8-10).

This study compared the increase in the volume of crack formations in young and old root dentin, before and after endodontic treatment and retreatment with rotary and reciprocating instruments, using micro-CT analysis. The Reciproc file (REC; VDW, Munich, Germany) was used for canal instrumentation. In the retreatment stage both groups were divided and retreated with REC and ProTaper Universal Retreatment file (PUR; Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland) with the aim of comparing the two systems in both dentin (young and old), by using micro-CT analysis.

Material and Methods

Selection of Samples and Micro-CT Specifications

According to a statistical database, the number of

Anexo 5 : Certificado KU Leuven relativo ao Doutorado-sanduiche:

REGISTRAR'S OFFICE
NAAMSESTRAAT 22 BOX 5401
3000 LEUVEN, BELGIUM



Mijnheer Bernardo Camargo dos Santos
Oudebaan 442
3000 Leuven

The authenticity of this document can be verified on
www.kuleuven.be/verificatie with
EE6BAC933001ED5E2F3DF15979C5869

STUDENT NUMBER 0684929

LEUVEN 2018-10-09

Registration certificate

The rector of KU Leuven hereby testifies that Bernardo Camargo dos Santos, born in Rio de Janeiro (Brazil) on 21.08.1982, has been enrolled as a student for International Scholar Faculty of Medicine (Leuven) from 17.04.2017 till 08.02.2018.

On behalf of the rector

Jan Raeymaekers
Director Registrar's Office

This certificate with signature has been generated electronically on the basis of a verified electronic file.

www.kuleuven.be/studentenadministratie/en
tel. +32 16 32 40 40
fax. +32 16 32 37 76
e-mail. sa@kuleuven.be



International Scholarship KU Leuven Bernardo Camargo dos Santos

OUR REF. , October, 8th 2018
YOUR REF.
LEUVEN

To whom it may concern

Dear Madame, dear Sir,

We hereby confirm that **Bernardo Camargo dos Santos**, born on 21.08.1982 in Rio De Janeiro (Brasil), was an International Scholar at KU Leuven, Department of Oral Health Sciences, under guidance of prof Paul Lambrechts.

The International Scholarship started on 17.04.2017 and lasted until 08.02.2018.

Kind regards,

Prof Paul Lambrechts
*Head of Endodontology department
Department of Oral Health Sciences
KU Leuven - Belgium*

Anexo 4 : Relatório Orientador no Exterior (Doutorado-sanduiche):

FACULTY OF MEDICINE
DEPARTMENT OF ORAL HEALTH SCIENCES
KAPUCIJENVOER 7
B-3000 LEUVEN

To the Brazilian Research funding Organisation
Brazil



KATHOLIEKE
UNIVERSITEIT
LEUVEN

OUR REF. Research Report Bernardo Camargo KU Leuven 30 05 2018
YOUR REF. LEUVEN, 30 May 2018

Dear research funding organisation,

with this letter I confirm that **Bernardo Camargo** performed excellent research as an **International Scholar** at the KU Leuven in the **period of 20/03/2017 – 28/02/2018**.

His research plan was supervised by **Prof. Paul Lambrechts**, Dept. Oral Health Sciences at the KU Leuven.

Concerning the stay of Bernardo Camargo at the KU Leuven, he did several experiments with our Micro-CT, Nano-CT and Cone-Beam CT facilities. He also participated as evaluator in a randomised clinical trial and used Amira software for comparison and quantification. He also guided other researchers in the BIOMT research cluster. He assisted in a Hercules funding project to acquire high endo Nano CT equipment and to build a XCT core facility. The funding was obtained.

Following topics were explored:

- Study the influence of the energy parameters (the relationship between kV/ μ A) for micro-CT studies on dentin and enamel.
- Study the spatial resolution provided by three different devices using the same pixel size.
- Evaluate the importance and influence of the pixel size for spatial image resolutions applied to the root canal system.
- Evaluate the use of a dual-energy microCT technique for differentiation of dentinal debris produced by endodontic instrumentation procedures.
- Define the best image processing parameters, including noise removal tools and threshold, related to the studied endodontic outcome (non-instrumented areas, canal transportation, debris quantification and anatomy studies).
- Qualitatively compare anatomical structures through microCT, nanoCT and, CBCT.

TEL. +32 16/33.24.55 FAX +32 16/33.24.35
E-mail: Paul.Lambrechts@med.kuleuven.be
<http://www.kuleuven.be>



- "The prevalence of the Mesio Buccal Root Canal of the maxillary first molars in a Brazilian population - A Micro-Computed Tomography study."
- "Treatment Approach Strategy (TAS) for external cervical tooth resorption: a guide for diagnosis and treatment decisions."
- "Phosphopullulan-based pulp-capping material stimulates reparative dentin formation"
- "An experimental tricalcium silicate cement induces reparative dentinogenesis."
- "Nano-CT evaluation of four different systems in Mandibular Incisors."
- "Endodontic microsurgery with the use of L-PRF and an occlusive membrane: a randomized controlled clinical trial."
- "A Regenerative Approach for Severely Traumatized Immature Maxillary Incisors with Pulp Necrosis and External Root Resorption: A Case Series."
- "External cervical tooth resorption follow up: Case reports."
- "Contrast agents Project".
- "Evaluation of eight different Cone-Beam protocols for Endodontic application".

Bernardo Camargo participated in several training courses and congresses.
He was an active member in the BIOMAT research cluster.
He showed a strong motivation, smooth interaction with other researchers and excellent computer software skills.
He accepted the opportunity of Prof. Bart Van Meerbeek to continue his research ambitions in the field of dental ceramics and 3D printing.

Sincerely yours,

Prof. Dr. P. Lambrechts,
*Program Director
Head of Conservative Dentistry
Coordinator of the Specialty training in Endodontology*

BIOMAT: <http://med.kuleuven.be/biomat/>