

AVALIAÇÃO DA DEFORMAÇÃO RELATIVA DE *PHANTOMS* DE ÁGAR POR MEIO DA ELASTOGRAFIA QUASE-ESTÁTICA (*FREE HAND*)

K.M.M. Lima*, J.F.S. Costa Júnior*, J.M. Vidal**, J.A. Barreto**, C.P. Carvalho* G.A. Cortela***, L.F. Oliveira***, M.A.von Kruger*, W.C.A. Pereira*

*Programa de Engenharia Biomédica/COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, Brasil

**Escola de Educação Física e Desportes/UFRJ, Rio de Janeiro, Brasil

***Facultad de Ciencias/UDELAR, Montevideo, Uruguay

e-mail: kellymmlima@yahoo.com.br

Resumo: Os objetivos deste estudo são caracterizar e comparar a proporção de intensidade de cores de imagens de *phantoms* de ágar, geradas pela elastografia quase-estática. Os *phantoms* foram preparados em três camadas de menor concentração (4% de ágar) e uma inclusão de maior concentração (6% de ágar). A escala de cores adotada nos elastogramas variou do vermelho (maior deformação) ao azul (menor deformação relativa). Trinta e três imagens captadas através de três vídeos foram analisadas por meio de histogramas, que indicavam a média da distribuição das cores primárias RGB (*red*, *green* e *blue*). Os resultados mostraram uma menor predominância da cor azul ($p < 0,05$) tanto nas camadas quanto na inclusão, o que sugere uma maior deformação relativa do *phantom* de ágar como um todo. Considerando uma mesma cor e região, a maioria dos vídeos analisados não obteve alteração significativa, o que indica uma boa repetitividade das aquisições.

Palavras-chave: elastografia, *phantom*, deformação relativa

Abstract: The aim of this study is to characterize and to compare the color intensity proportion of agar *phantoms* images generated by the quasi-static elastography. The *phantoms* were prepared in three layers of lower concentration (4% agar) and an inclusion of higher concentration (6% agar). The color scale adopted in elastogram ranged from red (lower strain) to blue (higher strain). Three video containing 33 images were analyzed by histograms that indicated the RGB (*red*, *green* and *blue*) colors distribution mean. The results showed a predominance of the lower blue color in layers and inclusion ($p < 0.05$) suggesting a greater agar *phantom* strain. Considering the same color and region, the most of the analyzed videos did not achieve significant change, which indicates good repeatability of acquisitions.

Keywords: elastography, *phantom*, strain

Introdução

A elastografia é uma técnica desenvolvida há pouco mais de 20 anos e objetiva gerar imagens em tempo real das propriedades elásticas do meio. De acordo com a dependência temporal da força externa aplicada sobre o meio investigado, ela pode ser do tipo quase-estática ou dinâmica. A elastografia do tipo quase-estática se

caracteriza pela produção de uma deformação relativa (*strain*) no tecido a partir da aplicação de compressões e descompressões cíclicas e manuais. A correlação cruzada é um método de processamento de sinais de radiofrequência usado para diferenciação do sinal antes e após a compressão do meio analisado. O elastograma aparece dentro de uma região de interesse e apresenta um mapeamento em cores, arbitrariamente determinado pelo usuário, que estima o grau de deformação relativa do meio. Tecidos rígidos apresentam menor deformação relativa que tecidos menos rígidos [1-2].

A elastografia do modo quase-estático disponibiliza dados apenas qualitativos da deformação relativa, já que o valor do *stress* (força/área) manual aplicado é desconhecido, e a compressão exercida é operador-dependente, o que pode gerar limitações na reprodutibilidade da técnica [1]. Estudos avaliaram a deformação relativa de imagens do tecido biológico, porém apenas de forma qualitativa e subjetiva [1-2].

O tecido biológico é um meio heterogêneo, cuja composição interna e as condições da interface são desconhecidas. Os *phantoms*, por sua vez, são materiais mimetizadores do tecido biológico e possuem a vantagem de possibilitarem uma caracterização mais acurada das propriedades mecânicas, já que a constituição do meio interno é conhecida [3].

Dessa forma, os objetivos deste estudo são caracterizar e comparar a proporção de intensidade de cores de imagens de *phantoms* de ágar, geradas pela elastografia quase-estática. Essas comparações foram realizadas entre: a) inclusão (maior concentração de ágar) e as camadas de menor concentração de ágar e b) os vídeos gerados com um mesmo intervalo de tempo.

Materiais e métodos

A elastografia quase-estática foi aplicada em *phantoms* de ágar. Esse material é usualmente utilizado em estudos de ondas acústicas, pois é de fácil e rápida confecção e possui propriedades acústicas semelhantes às dos tecidos biológicos (velocidade de propagação da onda longitudinal = 1.581 ± 26 m/s, a uma concentração de 4 g de ágar e 13 % de n-propanol, segundo o estudo de Manickam *et al.* [4]).

Estudos relatam que o aumento da concentração de alguns materiais usados para confecção de *phantoms*

modifica suas propriedades mecânicas, reduzindo a elasticidade. Benech [3] observou uma elevação do módulo elástico de cisalhamento da gelatina mudando sua concentração de 3 a 6% ($3,9 \pm 0,3$ a $21,0 \pm 1,0$ kPa, respectivamente). Manickam *et al.* [4] verificaram um incremento no módulo de Young ao aumentar a concentração de ágar de 4 g a 6 g (182 ± 14 a 347 ± 75 kPa, respectivamente). Dessa forma, para simular um tecido heterogêneo, como o tecido biológico, foram confeccionados *phantoms* de ágar a diferentes concentrações.

Preparação dos *phantoms* – O *phantom* apresentou forma cilíndrica (espessura de 5,1 cm e diâmetro de 11,2 cm) e foi preparado em três etapas. Na primeira, foi confeccionada uma camada a 4% de ágar e, em seguida, inseriu-se uma inclusão de maior concentração (6% de ágar), como mostra a Figura 1. Após a diluição dos componentes ágar e n-propanol (13%) em água deionizada, a mistura foi aquecida até uma temperatura próxima ao ponto de ebulição da água e, posteriormente, resfriado com o auxílio do agitador magnético (Novatecnica, SP, Brasil). Após o preparo, os mesmos foram inseridos em moldes e refrigerados.



Figura 1: à esquerda, a imagem da primeira camada do *phantom* de ágar (4%), com a inclusão (6%), no molde de alumínio. À direita, transdutor acoplado ao *phantom* com as três camadas e inclusão.

Aquisição das imagens elastográficas– as imagens de elastografia quase-estática foram obtidas pelo equipamento SonixMDP Ultrasound System (Ultrasonix, British Columbia, Canadá), contendo um software para gerar imagens elastográficas estáticas. A frequência de 14 MHz do transdutor foi escolhida para melhorar a resolução das imagens e a profundidade de 6,5 cm permitiu a visualização de todas as camadas dos *phantoms*. A escala de cores adotada varia do vermelho ao azul, indicando uma maior (*soft*) ou menor (*hard*) deformação relativa, respectivamente (Figura 2). As cores intermediárias, como verde, representam uma deformação relativa média. Três vídeos contendo, no mínimo, dez ciclos de compressão-descompressão manuais foram gravados com um mesmo intervalo de tempo. Após adicionar uma camada de gel na superfície do transdutor, ele foi posicionado perpendicularmente e transversalmente à superfície do *phantom* (Figura 1).

Um único examinador realizou a aquisição das imagens, mantendo os cuidados de evitar deslizamentos com o transdutor na superfície de interesse e adotando uma pressão uniforme, moderada e ajustada de acordo

com um indicador na tela do equipamento. O indicador de compressão apresenta seis níveis (Figura 2). Recomenda-se que a pressão exercida alcance a terceira fatia, pois equivale a uma pressão moderada e suficiente para provocar a deformação na região de interesse [5].

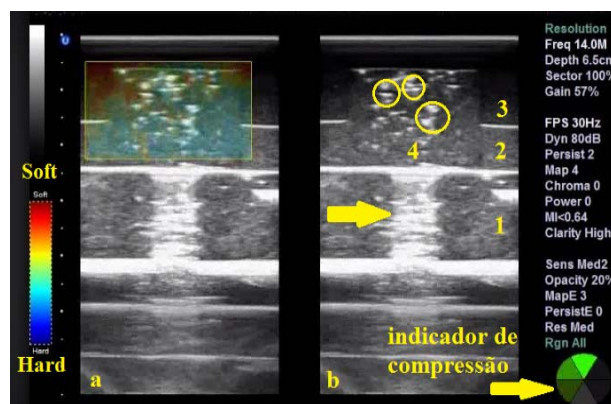


Figura 2: Ecografia do *phantom* de ágar mostrando (a) elastograma da área de interesse sobreposto à imagem modo-B e (b) apenas o modo-B. Na imagem, identificam-se três camadas de ágar a 4% (1, 2 e 3) e a inclusão a 6% (4), notando-se ainda a presença de bolhas (círculos amarelos) e reforço acústico (seta amarela)

Análise das imagens– Onze imagens em cada vídeo foram selecionadas para avaliação, totalizando 33 imagens. Em cada imagem, os elastogramas foram analisados com o aplicativo *ImageJ* (versão 1.42; National Institute of Health, Bethesda, MD, EUA). Primeiramente, a área correspondente à região esquerda (Figura 3a) foi selecionada e três histogramas referentes à distribuição de cores primárias RGB foram gerados (Figura 4). O mesmo procedimento foi realizado para as áreas das regiões à direita (Figura 3b) e inclusão (Figura 3c), totalizando nove histogramas por imagem.

Os elastogramas foram subdivididos para possibilitar comparações entre as camadas de menor concentração e a inclusão. As regiões esquerda e direita incluíram as três camadas.

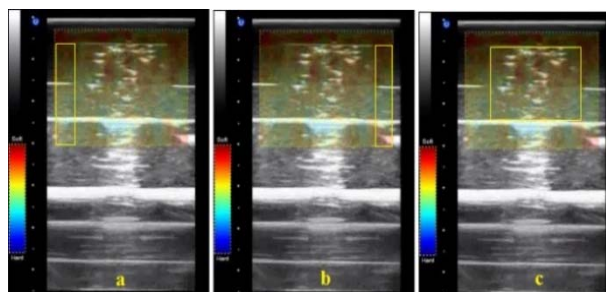


Figura 3: Elastogramas de uma mesma imagem, mostrando as regiões analisadas: (a)-esquerda, (b)-direita e (c)-inclusão.

Para cada histograma, obteve-se um valor médio, que significa a proporção de intensidade normalizada

pelas dimensões da matriz da imagem selecionada, como mostra a Equação (1) abaixo:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{n=0}^{255} (x_n \times y_n)}{(i \times j)} \quad (1)$$

onde, $\bar{X}$ representa a média; x_n , o número de *beans* ou possíveis intensidades de cada cor (como a imagem tem uma intensidade a 8 bits, há 256 possíveis valores para cada pixel), y_n , o número de ocorrências de cada intensidade (x_n), i , o número de colunas e j , número de linhas da matriz da imagem.

Espera-se que as regiões esquerda e direita adquiram a mesma distribuição de cores, já que foram produzidas com a mesma concentração e protocolo. Da mesma forma, a inclusão deve ter uma distribuição de cores diferente das demais regiões, por conter uma maior concentração de ágar. Caso os resultados deste estudo corroborem com achados de Manickam *et al.* [4], a inclusão terá menor deformação relativa, ou seja, a cor azul será predominante e as regiões esquerda e direita obterão maior deformação relativa, com o predomínio das cores vermelho ou verde.

Análise estatística- A normalidade dos dados foi verificada pelo teste D'Agostino & Pearson. O teste não paramétrico para amostras independentes Kruskal-Wallis foi utilizado para comparações entre: a) cores de uma mesma região e mesmo vídeo e b) vídeos de uma mesma região e cor ($p < 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas com o aplicativo SPSS Statistics, (versão 22.0, Nova Iorque, EUA).

Resultados

A Figura 4 mostra um exemplo dos três histogramas formados na inclusão de uma imagem elastográfica.

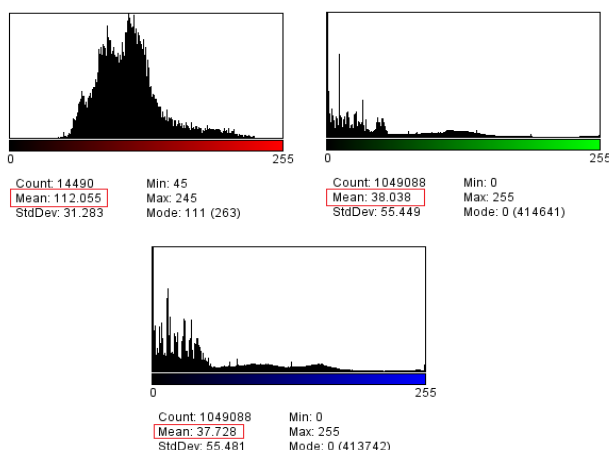


Figura 4: exemplo de histogramas da inclusão: escala de vermelho, escala de verde e escala de azul. A média (*mean*) foi destacada no retângulo vermelho.

Os valores da média da distribuição de cores por imagem e região encontram-se detalhados na Tabela 1.

Em uma mesma região e mesmo vídeo, observou-se uma menor predominância da cor azul, quando comparada ao verde e vermelho, em todas as regiões e vídeos ($p < 0,05$). A exceção foi apenas na região direita do vídeo 3, pois não houve diferença significativa entre o azul e vermelho. Não foram identificadas diferenças significativas entre as proporções de cores vermelho e verde nas mesmas regiões e vídeos (Tabela 1).

Em relação aos vídeos, em uma mesma cor e mesma região, verificou-se uma diferença significativa entre os vídeos 2 e 3, para as cores verde e azul nas regiões esquerda e direita e entre os vídeos 1 e 3, para as cores verde e azul na região direita (Tabela 1).

Tabela 1: Valores da média (desvio padrão) da distribuição das cores vermelho (Vm), verde (Vr) e azul (Az) em função das regiões inclusão (I), esquerda (E) e direita (D) e vídeos 1 (V1), 2 (V2) e 3 (V3).

		Vm	Vr	Az
I	V1	104,0 (10,6)	110,0 (5,9)	^{c,d} 76,3 (7,9)
	V2	107,7 (13,7)	107,5 (6,4)	^{c,d} 77,1 (13,6)
	V3	103,0 (12,8)	113,0 (4,1)	^c 85,0 (11,2)
E	V1	104,3 (10,3)	115,2 (4,5)	^{c,d} 87,2 (7,3)
	V2	106,2 (12,6)	^a 110,5 (4,5)	^{a,c,d} 80,5 (12,8)
	V3	115,7 (12,3)	122,6 (7,2)	^{c,d} 94,7 (13,7)
D	V1	106,3 (6,0)	^b 113,3 (4,4)	^{b,c,d} 83,2 (6,2)
	V2	107,9 (8,6)	^a 110,0 (5,8)	^{a,c,d} 79,6 (14,4)
	V3	109,2 (16,1)	121,9 (6,9)	^c 101,1 (7,8)

As letras indicam diferenças significativas ($p < 0,05$). Para uma mesma região e mesma cor, a= entre vídeos 2 e 3 e b= entre vídeos 1 e 3. Para um mesmo vídeo e mesma região, c= entre azul e verde; d= entre azul e vermelho.

Discussão

Este estudo se destaca por utilizar uma metodologia de análise da distribuição de cores do elastograma de forma semi-quantitativa, o que não é observado em trabalhos envolvendo a elastografia quase-estática [3-4].

Alguns estudos empregaram metodologia semelhante a esta, avaliando a distribuição de cores por meio de histogramas. Saftoiu *et al.* [6] objetivaram diferenciar nódulos linfáticos malignos e benignos em elastogramas e encontraram uma sensibilidade, especificidade e acurácia de 85,4%, 91,9% e 88,5%, respectivamente. Esses autores concluíram que a análise da média de distribuição de cores representa um método promissor para diferenciar a elasticidade do tecido. Gheorghe *et al.* [7] verificaram a possibilidade de diagnóstico de pequenos carcinomas hepáticos, mostrando que valores médios maiores que 128,9 de intensidade da cor azul demonstraram ser uma excelente ferramenta de diagnóstico diferencial da doença.

Os resultados do atual estudo mostraram que a cor azul foi a menos predominante em todas as regiões e vídeos, fato que descartou a hipótese de que essa cor estaria mais presente na inclusão. As médias das cores verde e vermelho foram maiores que a cor azul e não apresentaram diferença significativa entre si. Isso indica que as três regiões obtiveram a mesma proporção das cores vermelha e verde, o que corresponde a uma deformação relativa alta e intermediária em todo o *phantom* de ágar investigado.

Uma possível justificativa para os resultados deste estudo seria uma concentração ágar na inclusão insuficiente para reduzir sua deformação relativa. As confecções dos *phantoms* e concentração dos materiais foram as mesmas do trabalho de Manickam *et al.* [4], que encontraram um maior módulo de Young na inclusão. Esses autores utilizaram um sistema de compressão uniaxial e controlaram quantitativamente o nível de *stress* e *strain* aplicados, o que não é possível utilizando somente a elastografia quase-estática. Para aumentar a diferença de concentração entre a inclusão e as camadas, os primeiros *phantoms* produzidos neste trabalho continham 2% de ágar em cada camada e 6% na inclusão. No entanto, durante o ciclo de compressões, para um *stress* semelhante, houve um rompimento na primeira camada devido a menor rigidez dos *phantoms*. Os mesmos foram novamente produzidos com a concentração descrita neste trabalho (4%), não observando qualquer sinal de rompimento em suas camadas.

O *stress* manual aplicado, ainda que orientado pelo marcador de índice de compressão, pode ter sofrido variações que não provocaram uma deformação axial uniforme entre os vídeos. A presença de diferença significativa entre alguns vídeos sugere que pode ter ocorrido variações na força externa aplicada. No entanto, os valores da média de distribuição de cores na maioria dos vídeos não apresentou diferença significativa, o que indica uma boa repetitividade da técnica.

Mais estudos com diferentes concentrações e materiais para produção de *phantoms* são necessários a fim de se obter uma melhor caracterização de meios heterogêneos. A inserção de um método para avaliar mais acuradamente o grau de *stress* aplicado poderia reduzir os erros da compressão manual. Ainda, o controle de variáveis, como a temperatura é importante, já que o aumento da mesma pode reduzir a elasticidade do tecido. Finalmente, o uso do vácuo após a confecção do *phantom* é importante para reduzir os número de bolhas, que podem influenciar o processamento de cores na imagem.

Conclusão

Os resultados deste estudo mostraram que houve uma menor presença da cor azul em todas regiões do *phantom* de ágar, predominando as cores vermelho e verde, indicativas de grande e intermediária deformação relativa, respectivamente. Considerando uma mesma cor

e região, a maioria dos vídeos analisados não obteve alteração significativa, o que indica uma boa repetitividade das aquisições.

A elastografia é uma técnica promissora para distinguir diferentes propriedades mecânicas do meio investigado. O modo quase-estático apresenta como limitação o fato de ser operador-dependente. Dessa forma, a adoção de métodos mais precisos de análise da distribuição de cores é necessária para uma correta interpretação de imagens de tecidos biológicos. Esses instrumentos de avaliação elastográfica exercem papel fundamental no diagnóstico de doenças, como as oncológicas, podendo dispensar procedimentos invasivos de avaliação como a biópsia. Além disso, nas áreas da reabilitação e biomecânica, esses métodos possibilitam uma análise mais acurada dos efeitos de certas intervenções, como o alongamento, sobre a elasticidade músculo-tendínea.

Agradecimentos

Os autores agradecem a CAPES, CNPq e FAPERJ pelo apoio financeiro.

Referências

- [1] Drakonaki EE, Allen GM, Wilson DJ. Real-time ultrasound elastography of the normal Achilles tendon: reproducibility and pattern description. *Clinical Radiology*. 2009; 64(12):1196-202.
- [2] Tan S, Kudas S, Ozcan AS, Ipek A, Karaoglanoglu M, Arslan H, Bozkurt M. Real-time sonoelastography of the Achilles tendon: pattern description in healthy subjects and patients with surgically repaired complete ruptures. *Skeletal Radiology*. 2012; 41(9):1067-72.
- [3] Benech N. Elastografia Ultrasonora de Medios Viscoelásticos con Ondas de Cizalla Baja Frecuencia [dissertação]. Montevideo: Universidad de la Republica; 2004.
- [4] Manickam K, Machireddy RR, Seshadri S. Characterization of biomechanical properties of agar based tissue mimicking phantoms for ultrasound stiffness imaging techniques. *Journal of the mechanical behavior of Biomedical Materials*. 2014; 35:132-43.
- [5] Wu C, Chen W, Park G, Wang T, Lew HL. Musculoskeletal Sonoelastography: A Focused Review of its Diagnostic Applications for Evaluating Tendons and Fascia. *Journal of Medical Ultrasound*. 2012; 20:79-86.
- [6] Saftoiu A, Vilman P, Ciurea T, Poscu GL, Iordache S. Dynamic analysis of EUS used for the differentiation of benign and malignant lymph nodes. *Gastrointestinal Endoscopy*. 2007; 66(2):291-300.
- [7] Gheorghe L, Iacob S, Iacob R, Dumbrava M, Becheanu G, Herlea V, Gheorghe C, Lupescu I, Popescu I. Real time elastography- a non-invasive diagnostic method of small hepatocellular carcinoma incirrhosis. *Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases: JGLD*. 2009; 18(4):439-46.