

# Diferença da Caracterização Tecidual Ultrassonográfica (CATUS) Comparada com a Ultrassonografia Modo B na Hiperplasia Miointimal em Aorta de Coelhos Induzidos com Aterosclerose<sup>1</sup>

**TICIANE LEAL LEITE BUARQUE**

Doutora em Biotecnologia pelo Programa de Doutorado em Biotecnologia –  
Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO)  
Universidade Federal de Alagoas –UFAL

**GUILHERME BENJAMIN BRANDÃO PITTA**

Professor Associado da Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas  
(UNCISAL)

Orientador de doutorado RENORBIO - Rede Nordeste de Biotecnologia e  
mestrado e doutorado orientador em Cirurgia da  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

**ALDEMAR ARAÚJO DE CASTRO**

Professor assistente da Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas  
(UNCISAL) e, Cirurgião Vascular Hospital Geral do Estado Oswaldo Brandão Vilela

**ROSANE PEREIRA DOS REIS<sup>2</sup>**

Doutora em Biotecnologia pelo Programa de Doutorado em Biotecnologia –  
Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO)  
Universidade Federal de Alagoas –UFAL

**DANIELE GONÇALVES BEZERRA**

Professora Assistente da Universidade Federal de Alagoas – UFAL  
Doutora em Biologia Humana e Experimental  
Universidade Estadual do Rio de Janeiro, UERJ, Brasil

## Resumo

*O espessamento miointimal é uma alteração vascular precoce, que precede a placa ateromatosa. Tal espessamento corresponde a um estágio inicial da aterosclerose, que pode ser visualizado por meio da ultrassonografia modo B; tendo este espessamento valor prognóstico*

---

<sup>1</sup> Difference in Ultrasound Tissue Characterization (CATUS) Compared with B-Mode Ultrasound in Myointimal Hyperplasia in Aorta of Rabbits Induced with Atherosclerosis

<sup>2</sup> Corresponding author: rosane\_pr@hotmail.com

*bem demonstrado como preditor de eventos vasculares futuros. O ultrassom em escala de cinza foi utilizado, até recentemente, como método não invasivo padrão para identificar e discriminar a composição da placa aterosclerótica. Este estudo teve como objetivo determinar a diferença pela caracterização tecidual ultrassonográfica (CATUS) comparada com a ultrassonografia modo B na hiperplasia miointimal em aorta de coelhos induzidos com aterosclerose. Trata-se de estudo experimental, transversal e comparativo, utilizando segmentos arteriais de aortas de coelhos induzidas à aterosclerose. Após observação e análise das imagens obtidas percebeu-se uma diferença quanto à qualidade da visualização da imagem, bem como a quantificação do conteúdo selecionado quando comparadas as imagens obtidas pelo US modo B e pela CATUS, em ambos os grupos. Existe diferença na caracterização tecidual ultrassonográfica comparada à ultrassonografia modo B na observação da hiperplasia miointimal em coelhos, como também a técnica da CATUS não encontrou dificuldade em classificar a qualidade das amostras estudadas. Quando comparado com ao histopatológico a técnica CATUS mostrou-se eficiente, apresentando a vantagem de ser um método não invasivo e mais objetivo, atenuando o fator operador dependente.*

**Palavras-chaves:** Ultrassonografia; Aterosclerose; Hiperplasia miointimal; Prevenção.

### **Abstract**

*Myointimal thickening is an early vascular alteration that precedes atheromasal plaque. Such thickening corresponds to an early stage of atherosclerosis, which can be visualized by B-mode ultrasound; with this thickening prognostic value well demonstrated as a predictor of future vascular events. Grayscale ultrasound was used until recently as a standard noninvasive method to identify and discriminate the composition of the atherosclerotic plaque. This study aimed to determine the difference by ultrasound tissue characterization (CATUS) compared with B-mode ultrasound in myointimal hyperplasia in the aorta of rabbits induced with atherosclerosis. This is an experimental, cross-sectional and comparative study, using arterial segments of rabbit*

*aortas induced to atherosclerosis. After observation and analysis of the images obtained, a difference was noticed in terms of the quality of the image visualization, as well as the quantification of the selected content when comparing the images obtained by US mode B and CATUS, in both groups. There is a difference in ultrasound tissue characterization compared to B-mode ultrasound in the observation of myointimal hyperplasia in rabbits, as well as the CATUS technique found no difficulty in classifying the quality of the samples studied. When compared to the histopathological technique, the CATUS technique proved to be efficient, presenting the advantage of being a noninvasive and more objective method, attenuating the dependent operator factor.*

**Keywords:** Ultrasound; Atherosclerosis; Myointimal hyperplasia; Prevention

## 1. INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares continuam sendo a principal causa de morte nas sociedades industrializadas, e estima-se que, no ano de 2020, serão a primeira causa de morte no mundo todo, devido ao rápido aumento da sua prevalência em países em desenvolvimento e na Europa Oriental e pela incidência cada vez maior de obesidade e diabetes, no mundo ocidental (Raudales 2006).

Atualmente, a aterosclerose consiste em um processo crônico, progressivo e sistêmico, caracterizado por resposta inflamatória e fibroproliferativa da parede arterial, a qual é causada por agressões à superfície arterial. O distúrbio da função do endotélio vascular é o passo inicial para a aterogênese, sendo a hipercolesterolemia um dos seus principais desencadeantes (Bouskela 2004, Jaldin 2007; Chequer et al. 2006, Hiss 2006)

Clinicamente, até o presente, não há ferramentas confiáveis para avaliar de forma não invasiva a rigidez vascular e funcionamento da parede vascular. Logo, é importante o desenvolvimento de novas técnicas para avaliação das alterações patológicas da parede vascular em pacientes com alto risco de aterosclerose (Wen, 2010).

O ultrassom em escala de cinza foi utilizado, até recentemente, como método não invasivo padrão para identificar e discriminar a composição da placa aterosclerótica. Algoritmos inovadores de análise dos sinais de radiofrequência levaram ao desenvolvimento de uma técnica ultrassonográfica em cores denominada caracterização tecidual ultrassonográfica (CATUS), capaz de identificar os componentes histopatológicos da placa aterosclerótica in vivo (Cunha 2012, Falcão et al. 2009).

As aplicações do ultrassom em tons de cinza são amplamente utilizadas, porém informações adicionais sobre a composição da placa exatamente pela CATUS, nestas situações clínicas, podem aperfeiçoar ainda mais a estratificação dos pacientes portadores de aterosclerose. A determinação da composição da placa aterosclerótica via CATUS pode ser útil para a escolha dos tipos de tratamento e, portanto, pode melhorar tanto o resultado clínico da terapia aplicada, como seu prognóstico (Cunha 2012).

O US modo B possui 256 níveis de variações de brilho (tons de cinza) e o sistema visual humano diferencia, apenas, 16 níveis de cinza, logo 16 vezes menos informações contidas na imagem ultrassonográfica.

A técnica da CATUS realiza uma análise mais completa da amplitude dos brilhos de cada pixel da imagem ultrassonográfica, permitindo a identificação e a classificação mais precisa das lesões ateroscleróticas, visto atribuir uma escala de cores aos diversos tons de cinza encontrados, possibilitando assim uma possível comparação com a histopatologia (Cunha 2012)

A possibilidade de utilização de inteligência artificial para o estudo da placa de ateroma pode facilitar a rotina diagnóstica. Um software pode realizar análises totalmente automatizadas, com a identificação da artéria, da placa de ateroma e a sua análise, assim como o profissional de saúde, pode selecionar a área de interesse e o computador realiza a análise. Esta metodologia acelera o tempo do exame e sua interpretação, podendo tornar prática a análise histológica em exames de rotina em que já é avaliado o grau de estenose da artéria. Assim é relevante responder a pergunta de pesquisa: qual a diferença pela caracterização tecidual ultrassonográfica (CATUS) comparada

como ultrassonografia modo B na hiperplasia miointimal em aorta de coelhos induzidos com aterosclerose?

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

Esta pesquisa foi aprovada (protocolo 96-A/2012) pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas – UNCISAL. Trata-se de um estudo experimental onde foram adotados como modelos experimentais coelhos albinos da espécie *Oryctolagus cuniculus*, pertencentes à raça Nova Zelândia; devido à indução da aterosclerose já está bem descrita na literatura. Foram selecionados por conveniência 10 coelhos, dos quais 7 (sete) foram expostos a uma dieta hiperlipídica com colesterol Impextraco® e gema de ovo (grupo colesterol), e 3 (três) coelhos submetidos a uma dieta balanceada apenas com o uso de ração (grupo controle).

Os dois grupos de animais foram alimentados por 100 dias e, ao término do experimento, os coelhos foram eutanasiados. Pós-morte, cada animal foi submetido ao procedimento para a retirada de fragmento da artéria aorta nos segmentos torácico e abdominal. Depois de retirados, os fragmentos arteriais foram conservados em solução de formaldeído a 10%.

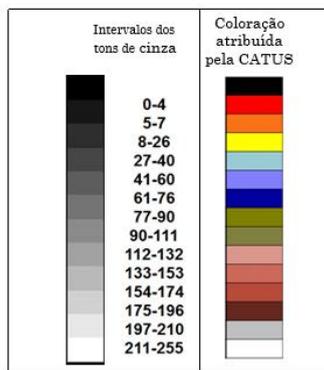
Definimos como complexo miointimal a distância entre a borda principal da primeira linha ecogênica e a borda principal da segunda linha ecogênica. A primeira linha representa a interface do lúmen da íntima e a segunda linha representa a transição média-adventícia da aorta.

A caracterização do complexo miointimal foi realizada por um profissional médico independente experiente, pela técnica manual, por meio de um transdutor linear de frequência de 12 MHz de um aparelho de ultrassonografia no modo B, da marca General Electric Company - GE, modelo Logiq 7. Esta técnica seguiu as recomendações do Consenso da Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC, 2006).

O segmento arterial foi posicionado de forma horizontal, na direção crânio caudal, e disposto em recipiente contendo gel à base de água para visualização do ultrassom. A imagem da artéria aorta foi obtida no plano longitudinal, com o vaso paralelo ao transdutor. Foram

analisadas: a distância entre as duas linhas ecogênicas, representadas pelas interfaces lúmen-íntima e média-adventícia da parede arterial, e a classificação da área estudada em ecogênica e hiperecogênica. A CATUS classificou a imagem ultrassonográfica modo B quantitativamente nos intervalos relacionados aos brilhos contidos em cada imagem obtida pelo ultrassom modo B (Figura 01).

**Figura 1.** Exemplificação da relação entre os diferentes tecidos e sua coloração na CATUS.



Fonte: Tabela adaptada dos intervalos descritos por Lal et al, 2002.

A análise foi feita por um pesquisador independente através de um software validado (Cassou-Birkholz et al., 2011). A área estudada foi selecionada, escalada e analisada qualitativamente obtendo uma coloração artificial para as amplitudes de brilhos reveladas na imagem ultrassonográfica.

Após o estudo de imagem, os segmentos arteriais foram incluídos na parafina com seu eixo longo disposto perpendicularmente a base do bloco e, posteriormente, estes foram submetidos a secções transversais seriadas de 5µm e retiradas para exame da região da aorta. Os cortes selecionados foram corados pela hemoxilina- eosina e montados entre lâmina e lamínula para exame através da microscopia óptica.

A caracterização da medida da espessura do complexo miointimal foi realizada por um profissional médico patologista independente que não teve acesso a respeito dos dados obtidos pelo

exame ultrassonográfico do grupo estudado. Para esta caracterização, foi utilizado o microscópio óptico de luz Nikon Eclipse 50i® com objetiva de 40x e 100x, e para cada corte histológico foram quantificadas as definições e medidas do complexo miointimal.

Como forma de mascaramento, o profissional que fez o teste diagnóstico US modo B ou CATUS não teve conhecimento dos resultados do teste anterior, bem como a quantificação pelo método histopatológico nos grupos estudados foi realizada de forma independente e cega em relação aos resultados obtidos pela ultrassonografia tradicional e pela caracterização tecidual ultrassonográfica.

### **3. RESULTADOS**

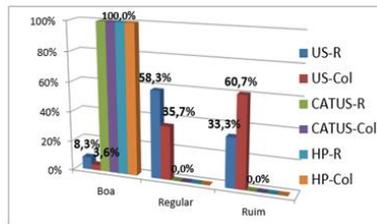
Foram estudados os segmentos arteriais torácicos e abdominais de 10 animais, perfazendo um total de 40 segmentos, sendo 28 do grupo colesterol e 12 do grupo controle.

Para análise estatística foi utilizado o teste t de Student; a análise descritiva foi realizada calculando o intervalo de confiança de 95% para cada ponto estimado, sendo os cálculos realizados com o auxílio do aplicativo estatístico GraphPad Instat® versão 3.06.

No gráfico abaixo observamos as características da amostra, onde esta foi realizada por meio da percepção dos avaliadores envolvidos (avaliadores duplos cegos com relação às amostras e avaliações anteriores), notamos que a mesma foi realizada pelo examinador da CATUS, a caracterização pelo examinador do US modo B não foi possível devido a baixa qualidade das imagens referidas pelo mesmo.

Ticiane Leal Leite Buarque, Guilherme Benjamin Brandão Pitta, Aldemar Araújo de Castro, Rosane Pereira dos Reis, Daniele Gonçalves Bezerra- **Diferença da Caracterização Tecidual Ultrassonográfica (CATUS) Comparada com a Ultrassonografia Modo B na Hiperplasia Miointimal em Aorta de Coelho Induzidos com Aterosclerose**

**Gráfico 01:** Qualidade do material (artérias) analisado pelo US modo B (US), CATUS e Histopatológico (HP) nos grupos Controle (R) e Colesterol (Co).



Fonte: Dados do experimento.

Na tabela seguinte observamos as comparações realizadas nas áreas ecogênica e hiperecogênica do grupo ração, também pelo método CATUS, com valor de  $p = 0.0237$ .

**Tabela 01.** Comparação da área ecogênica e hiperecogênica do grupo ração, método CATUS.

	Área Ecogênica (n= 07)	Área Hiperecogênica (n= 07)
Média	35.0%	21.2%
Desvio Padrão	10.7%	9.1%
Erro padrão médio	4.0%	3.4%
95% IC	25.1% a 44.9%	12.8% a 29.6%
Mínimo	19.9%	6.6%
Mediana	31.5%	22.8%
Máximo	49.3%	30.0%

Fonte: Dados do experimento.

Uma comparação da área hiperecogênica entre os grupos colesterol e ração, método CATUS, revelou valor de  $p = 0.6039$  com 95% IC = 15.10555 a 9.03777.

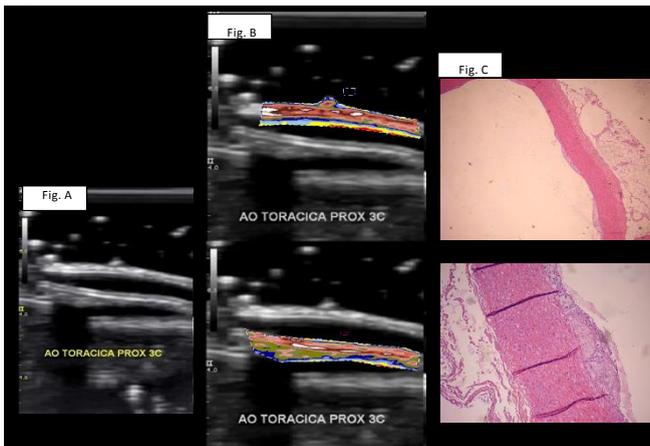
**Tabela 02.** Comparação da área hiperecogênica entre os grupos colesterol e ração, método CATUS.

	Grupo colesterol (n= 13)	Grupo Ração (n= 07)
Média	24.3%	21.6%
Desvio Padrão	12.2%	10.7%
Erro padrão médio	3.4%	4.0%

Fonte: Dados do experimento.

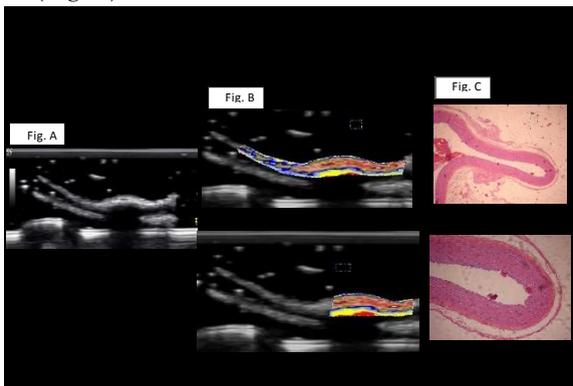
Após observação e análise das imagens obtidas percebeu-se uma diferença quanto à qualidade da visualização da imagem, bem como a quantificação do conteúdo selecionado quando comparadas as imagens obtidas pelo US modo B e pela CATUS, em ambos os grupos.

**Figura 02.** Segmento da artéria torácica proximal, do grupo colesterol, imagem obtida por meio do US modo B (Fig.A), pelo método CATUS (Fig. B) e histopatológico (Fig. C)



Fonte: Dados do experimento.

**Figura 03.** Segmento da artéria abdominal proximal, do grupo ração, imagem obtida por meio do US modo B (Fig.A), pelo método CATUS (Fig. B) e histopatológico (Fig. C)



Fonte: Dados do experimento.

#### 4. DISCUSSÃO

Estudos populacionais e hospitalares utilizam técnicas não invasivas para avaliar alterações precoces na estrutura e função da parede arterial, como a medida do complexo mioíntimal; tal medida é de fácil reprodutibilidade, seguro e de baixo custo (Engelhorn 2006).

O Ultrassom modo B fornece informações sobre a anatomia da artéria, incluindo o tamanho da mesma e sua configuração espacial, avaliando a parede do vaso quanto à presença de espessamento ou placas.

O complexo mioíntimal, ultrassonograficamente, é definido como a distância entre a borda principal da primeira linha ecogênica e a borda principal da segunda linha ecogênica; a primeira linha representa a interface do lúmen da íntima e a segunda linha representa a transição média-adventícia da artéria.

A avaliação do complexo mioíntimal arterial, com ultrassonografia modo B de alta resolução, é um método não invasivo para verificar e investigar a função endotelial repetidamente, assim como a presença de aterosclerose e sua progressão ao longo do tempo (Hiss 2006).

O ultrassom modo B é limitado para avaliação de medidas funcionais, pois a resolução do transdutor utilizado não é suficiente para a monitorização e análise da morfologia da parede vascular (Hiss 2006).

Em ultrassons tradicionais, em escala de cinzas, a amplitude do sinal de ecogênico é utilizada para interpretação dos dados, onde é difícil analisar as estruturas em seus diferentes tons de cinza (König e Klauss 2007). A imagem cinzenta da ultrassonografia possui 256 níveis de variações do brilho, entretanto o sistema visual humano diferencia apenas 16 níveis de cinza, ou seja, 16 vezes menos que a informação contida na imagem, logo se pressupõe que existam mais informações contidas na imagem ultrassonográfica que o olho humano não consegue identificar. Baseando-se nesta informação, acredita-se que o exame ultrassonográfico não seja tão fidedigno e possui um grande viés de avaliador/observador.

Em contraste, a CATUS mostra-se uma modalidade de imagem precisa para avaliação da morfologia e função da parede arterial. A caracterização da imagem ultrassonográfica demonstra regiões com ecos semelhantes a sangue, lipídeos, músculo, fibra e cálcio; sucintamente, a técnica CATUS cria uma escala de brilhos na imagem ultrassonográfica modo B (Cunha, Dosick e Jones 2004).

A CATUS promete ser um método não invasivo aplicável aos pacientes assintomáticos, capaz de proporcionar avaliação de múltiplos leitos vasculares, apresentando alta resolução, evitando a exposição destes à radiação e aos radiocontrastes. O ultrassom modo B utiliza somente a amplitude da onda (intensidade do eco) na formação da imagem. Por sua vez, a CATUS também emprega a frequência do sinal do eco, que varia conforme o tecido. Deste modo, torna-se possível a caracterização dos elementos que compõem a placa aterosclerótica, com maior acurácia do que o ultrassom convencional (Raudales et al 2006). A CATUS permite uma análise mais completa da amplitude dos brilhos de cada pixel da imagem e uma possível comparação com a histologia patológica. Tal precisão é inovadora, visto que, por meio do estudo proposto, será possível caracterizar a placa aterosclerótica e correlacioná-la com o prognóstico do paciente, de forma rápida e eficaz; como também ajudará a distinguir placas susceptíveis à ruptura e, como consequência, auxiliará na prevenção de eventos cardiovasculares (Cunha 2012, König e Klauss 2007).

O uso da CATUS será uma ferramenta de imagem promissora que poderá influenciar o processo de tomada de decisão clínica. Espera-se que os dados fornecidos por tal tecnologia possa estabelecer um papel firme para o progresso de uma ferramenta de pesquisa para melhorar os resultados dos pacientes e melhorar sua sobrevivência (Lal et al. 2002). Esta afirmação torna-se mais evidente quando há a presença de conteúdo lipídico envolto de capa fibrosa fina, muito próxima à luz do vaso, situação em que o ultrassom convencional pode ser de difícil interpretação, induzindo o operador a interpretar a placa como área de luz do vaso. A CATUS facilita a identificação do conteúdo lipídico neste caso, designando cores aos tecidos, conforme citado a seguir: conteúdo fibroso – verde; fibro-lipídico – amarelo; cálcio – branco; e núcleo lipídico – vermelho.

Desta forma, a visualização da placa ateromatosa e de seu conteúdo torna-se destacada, e permite ao operador caracterizações antes passíveis de erro, mesmo aos operadores com muita experiência no ultrassom convencional, com precisão satisfatória, como mostra um estudo de correlação da CATUS com a análise histopatológica. Outro aspecto interessante da CATUS é a possibilidade de quantificar o conteúdo de determinado tipo de tecido no interior da placa ateromatosa, o que permite avaliações não só qualitativas, mas também quantitativas, do conteúdo de cálcio e de lago lipídico. (Raudales 2006, Herck 2009).

## 5. CONCLUSÃO

A técnica CATUS mostrou-se eficiente, apresentando a vantagem de ser um método não invasivo e mais objetivo, atenuando o fator operador dependente.

O uso da CATUS será uma ferramenta de imagem promissora que poderá influenciar o processo de tomada de decisão clínica. Espera-se que os dados fornecidos por tal tecnologia possa estabelecer um papel firme para o progresso de uma ferramenta de pesquisa para melhorar os resultados dos pacientes e melhorar sua sobrevida.

## REFERÊNCIAS

1. Raudales J. C. et al. 2006. “Placa Coronária aterosclerótica vulnerável: estudo atual”. *Rev. Bras Cardiol Invas.* 14., no.3 (Janeiro):314-323
2. Bouskela E. et al. 2004. “Endotélio e aterosclerose – Artigo de revisão”. *Revista da SOCERJ* 17: 26-32.
3. Jaldin R. G. 2007. “Aterosclerose experimental: modelo de baixo custo”. *J Vasc Bras.* 5: 247-256.
4. Chequer G. et al. 2006. “Espessamento médio-intimal da carótida e função endotelial na doença arterial coronariana”. *Arq Bras Cardiol.* 87, no.2:84-90.

5. Hiss K. et al. 2006. “Transcutaneous vascular ultrasound in hypercholesterolaemic rabbits: a new method to evaluate endothelial function”. *Laboratory animals*. 40: 80-86.
6. Wen C. et al. 2010. “Sonographic assessment of atherosclerotic and hypercholesterolemic artery using the echo-tracking technique in an animal model”. *Vascular* 18, no. 3 (Junho): 178-184. DOI: 10.2310/6670.2010.00006.
7. Cunha S. X. S. 2012. “Nota técnica: avaliação ultrassonográfica de aneurismas da aorta tratados com endopróteses”. *J Vasc Bras*. 11, no.2:150-153. <https://doi.org/10.1590/S1677-54492012000200013>.
8. Falcão J. L. A. A. et al. 2009. “Associação Entre a Densidade Radiológica da Placa à Tomografia de Coronárias com 64 Colunas de Detectores e a Composição da Placa ao Ultrassom Intravascular com Técnica de Histologia Virtual: Resultados de uma Comparação Pareada Prospectiva”. *Rev Bras Cardiol Invas*.17, no.3:327-34. <http://dx.doi.org/10.1590/S2179-83972009000300009>.
9. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia – Intervenção Coronária Percutânea e Métodos Adjuntos Diagnósticos em Cardiologia Intervencionista (II Edição, 2008). Acessado em Agosto de 2012. <http://publicacoes.cardiol.br>
10. Cassou-Birckholz M. F. et al. 2011. “Assessment of deep venous thrombosis by grayscale median analysis of ultrasound images”. *Ultrasound Q*. 27, no. 1(Março):55-61.
11. Engelhorn et al. 2006. “Espessamento Médio-Intimal na Origem da Artéria Subclávia Direita como Marcador Precoce de Risco Cardiovascular”. *Arq Bras Cardiol*. 87: 609-614.
12. Cunha S. X., Dosick S.M. e Jones L. 2004. “Fate of Great Saphenous Vein After Radio-Frequency Ablation:Detailed Ultrasound Imaging”. *Vascular and Endovascular Surgery* 2, no.4 (Março):339-344.
13. König A. e Klauss V. 2007. “Virtual histology”. *Heart* 93 (8):977-982.

14. Lal B. K. et al. 2002. "Pixel distribution analysis of B-mode ultrasound scan images predicts histologic features of atherosclerotic carotid plaques". *J Vasc Surg.* 35:1210-1217.
15. Herc J. V. et al. 2009. "Validation of in vivo plaque characterization by virtual histology in rabbit model of atherosclerosis". *EuroIntervention.* 5: 149-156.