AVALIAÇÃO DA VARIAÇÃO ESCALA DE CINZA EM IMAGENS ULTRASSÔNICAS DE TECIDOS BIOLÓGICOS EX-VIVO EM FUNÇÃO DA MUDANÇA TEMPERATURA

Juliana Gabardo Rigueira

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Biomédica, COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Engenharia Biomédica.

Orientadores: Wagner Coelho de Albuquerque Pereira
Marco Antônio von Krüger

Rio de Janeiro

Março/2022

AVALIAÇÃO DA VARIAÇÃO ESCALA DE CINZA EM IMAGENS ULTRASSÔNICAS DE TECIDOS BIOLÓGICOS EX-VIVO EM FUNÇÃO DA MUDANÇA TEMPERATURA

.

Juliana Gabardo Rigueira

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO INSTITUTO ALBERTO LUIZ COIMBRA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA DE ENGENHARIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIAS EM ENGENHARIA BIOMÉDICA.

Orientadores: Wagner Coelho de Albuquerque Pereira
Marco Antônio von Krüger

Aprovada por: Prof. Wagner Coelho de Albuquerque Pereira
Prof. Marco Antônio von Krüger
Prof. Roberto Macoto Ichinose
Dr. André Victor Alvarenga

RIO DE JANEIRO, RJ – BRASIL
MARÇO 2022

Rigueira, Juliana Gabardo.

Avaliação da variação da escala de cinza em imagens ultrassônicas de tecidos biológicos ex-vivo em função da mudança de temperatura/Juliana Gabardo Rigueira. – Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2021.

IX, 62p.: il.; 29,7 cm.-1

Orientadores: Wagner Coelho de Albuquerque Pereira
Marco Antônio von Krüger

Dissertação (mestrado) – UFRJ/ COPPE/ Programa de Engenharia Biomédica, 2022.

Referências Bibliográficas: p. 53-55.

1.imagem ultrassom. 2 retroespalhamento. 3.temperatura. I. Pereria, Wagner Coelho de Albuquerque et al. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, Programa de Engenharia Biomédica. III. Avaliação da escala de cinza em imagens ultrassônicas de tecidos biológicos ex-vivo em função

Agradecimentos

A Deus, ao poder do universo, que me protegem e abençoam, me permitindo sonhar e realizar, trilhando novos caminhos com saúde e fé.

Aos meus pais, Vera e Flávio que, com muito esforço e dedicação, sempre deram o melhor de si para que nunca me faltasse nada, que me ensinaram que educação e cultura são bens valiosos e que quanto mais dividirmos mais teremos. A minha irmã, Gabriela e meu sobrinho João Francisco que, junto com meus pais, sempre me apoiaram e tornam minha jornada pela vida repleta de sorrisos e amor.

Aos meus queridos orientadores, Wagner e Marco, que me inspiram e que acreditaram no potencial, que eu mesma não sabia que tinha, para desenvolver esse trabalho e, com muita paciência e humildade, me ensinam muito sobre ultrassom e vida todos os dias. E que são os principais responsáveis por essa dissertação se tornar real.

Aos meus amigos de turma do mestrado que estiveram sempre unidos nessa caminhada, principalmente aos engenheiros Erick Saito, Vinicius Trajano e Wellington Pinheiro, que disponibilizaram seus bens mais valiosos, tempo e conhecimento, me dando aulas e me ensinando a pensar com a lógica de um engenheiro, me salvaram todas as vezes que o MATLAB® insistia em não funcionar e ouviram pacientemente minhas lamúrias.

Aos meus companheiros do LUS, a família mais dançante de toda Engenharia Biomédica, principalmente a Thais Omena e Flávia Fernandes que estiveram sempre me apoiando e me dando novas oportunidades durante essa jornada e Lucas diMatheo por estar sempre solicito a me ensinar e pelos cafés com canela.

Aos professores do PEB que tanto me ensinaram e mudaram minha visão da vida quando a engenharia passou a ser uma parcela mais palpável do meu universo.

Aos meus amigos que sempre estiveram ao meu lado, me apoiando, entendendo meus surtos e me incentivando a permanecer nesse percurso difícil, porém gratificante.

Aos meus pacientes que muitas vezes foram privados dos seus atendimentos para que eu pudesse me dedicar a confecção desta tese e não só compreenderam como apoiaram esse momento.

E, por fim, aos órgãos que apoiam financeiramente a pesquisa e a tornam possível em nosso país FAPERJ, CAPES e CNPq e ao meu programa que transforma e dá vida a ciência.

Resumo da Dissertação apresentada à COPPE/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Ciências (M.Sc.)

AVALIAÇÃO DA VARIAÇAO DA ESCALA DE CINZA EM IMAGENS ULTRASSÔNICAS DE TECIDOS BIOLÓGICOS EX-VIVO EM FUNÇÃO DA MUDANÇA DE TEMPERATURA

Juliana Gabardo Rigueira
Março/2022

Orientadores: Wagner Coelho de Albuquerque Pereira
Marco Antônio von Krüger

Programa: Engenharia Biomédica

A ultrassonografia é um dos métodos de diagnóstico por imagem mais utilizados atualmente em virtude do seu baixo custo e fácil acesso. Porém, não apresenta uma imagem com nível de detalhamento como o observado com a técnica de ressonância magnética, por exemplo. Em vista disso, uma nova modalidade de processamento de imagem de ultrassom que utiliza a variação de temperatura como forma de perturbação do meio para a obtenção de um contraste de melhor qualidade foi proposta por Teixeira *et al*., 2018, em que foi utilizado como base a teoria da variação da energia retroespalhada - *changes in backscattered energy* (CBE). Nessa mesma linha de pesquisa foi constatado que meios com um maior número de espalhadores lipídicos causam incremento na curva de CBE ao serem aquecidos, enquanto meios com espalhadores aquosos causam declínio na curva quando submetidos às mesmas condições. Além disso, notou-se que imagens realizadas em diferentes temperaturas apresentaram contraste diferentes, o que levou a crer que seria possível observar mudanças na intensidade do sinal ultrassônico com o aquecimento do meio. Assim, o presente estudo tem como objetivo determinar a menor região possível em imagens de tecidos adiposo e muscular de porco frescos, cuja variação da intensidade dos pixeis em tons de cinza gere um contraste perceptível aos olhos do observador. Variação esta, fruto da mudança do sinal ultrassônico gerado nas imagens de tecido biológico durante o incremento de temperatura.

Abstract of Dissertation presented to COPPE/UFRJ as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science (M.Sc.)

EVALUATION OF THE GRAY SCALE INTENSITY VARIATION OF ULTRASONIC IMAGES FROM BIOLOGICAL TISSUE EX-VIVO AS A FUNCTION OF TEMPERATURE.

Juliana Gabardo Rigueira

Março/2022

Advisors: Wagner Coelho de Albuquerque Pereira
Marco Antonio von Krüger

Department: Biomedical Engineering

Ultrasonography is one of the most used diagnostic imaging methods today due to its low cost and easy access. However, it does not present an image with a level of detail as observed with the magnetic resonance technique, e.g. In view of this, a new modality of ultrasound image processing that uses temperature variation as a means of disturbing the environment for obtaining a better-quality contrast, it was proposed by Teixeira et al., 2018. Where the theory of variation of backscattered energy - changes in backscattered energy (CBE) was used. In the same line of research, it was found that media with a greater number of lipid scatterers cause an increase in the CBE curve when heated, while media with aqueous scatterers cause a decline in the curve when subjected to the same conditions. In addition, it was noted that images taken at different temperatures showed different contrast, which led to believe that it would be possible to observe changes in the intensity of the ultrasonic signal with the heating of the medium. Thus, the present study aims to determine the smallest possible region in images of fresh pig fat and muscle tissues, whose variation in pixel intensity in shades of gray generates a noticeable contrast to the eyes of the observer. This variation is the result of the change in the ultrasonic signal generated in the biological tissue images during the temperature increase.

Sumário

1 Introdução 1

1.1 Objetivos 3

1.2 Objetivos específicos 3

1.3 Estruturação do trabalho..... 4

2 Fundamentação teórica 5

2.1 Princípios físicos do ultrassom 5

2.2 Formação de imagem de ultrassom 8

2.3 Formação de imagem com base nas mudanças da energia de retroespalhamento 10

3 Revisão da Literatura 19

4 Material e métodos.....23

3.1 Obtenção das imagens.....23

3.2 Processamento das imagens 24

4 Resultados 29

5 Discussão..... 46

6 Conclusão 51

7 Referências Bibliográficas 53

8 Apêndice A. 56

Lista de abreviaturas e siglas

CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CBE – *Change in Backscattered energy* – Mudança na Energia Retroespalhada

CBEUS – *CBE-based ultrasound imaging* – Imagem ultrassônica baseada em CBE

CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

FAPERJ – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro

RF – Sinal de radiofrequência de ultrassom

ROI –*Region of interest* - Região de Interesse

SD – *Standard Deviation* – Desvio Padrão

US – Ultrassom

1 Introdução

A ultrassonografia é uma técnica de aquisição de imagens médicas com uso datado em 1957 e atualmente é o método de diagnóstico por imagem mais utilizado. Estima-se que aproximadamente 25 % dos exames de imagens médicas realizados no mundo sejam de ultrassom. Esse grande número deve-se ao fato de que o ultrassom é um método que produz imagens em tempo real, com equipamentos de fácil acesso e manuseio, custo relativamente baixo e se apresenta como uma forma segura de captura de imagem, uma vez que não é invasivo e não expõe o paciente à radiação ionizante como técnicas de Raios X, por exemplo (PALMER *et al.* 1995, PEIXOTO, 2010).

Até hoje, muitos estudos foram realizados em busca de uma imagem com melhor qualidade (resolução, contraste etc.), passando pelo desenvolvimento das imagens em modo B, com o método tradicional em 2D e atualmente em 3D, o que gera uma imagem mais próxima à realidade dos tecidos examinados, permitindo assim uma melhor detecção de possíveis alterações.

Mesmo com todos os avanços na tecnologia, a ultrassonografia ainda é uma técnica que apresenta limitações em termos de qualidade de imagem, o que faz com que diagnósticos ainda sejam realizados de forma subjetiva e dependam do bom senso e experiência do profissional (PALMER *et al.*, 1995). Até os dias de hoje, ainda não se conseguiu uma imagem cujo nível de detalhamento se equiparasse com o obtido por outros métodos como a Ressonância Magnética, por exemplo, e que permita um maior contraste de estruturas, em especial de possíveis anomalias.

O ultrassom também é utilizado com fins terapêuticos, o aquecimento por ultrassom é utilizado tanto por fisioterapeutas, para reparação de lesões músculo esqueléticas (diatermia), como também por médicos no tratamento para sensibilização ou ablação celular de tumores cancerígenos (hipertermia).

Nos casos em que o ultrassom é usado para diatermia, o profissional não tem como saber qual a área realmente aquecida e se a faixa de temperatura terapêutica foi atingida (39 ° - 41 °C) pelo tempo necessário. O desconhecimento da temperatura alcançada gera certa desconfiança nos profissionais, restringindo o uso da técnica de

diatermia por ultrassom (ALVARENGA *et al.*, 2010).

Em terapias para ablação de tumores, o conhecimento da temperatura com a maior exatidão é de extrema importância, uma vez que as faixas de hipertermia têm efeitos diferentes nas células. Temperaturas entre 42 °C e 45 °C são utilizadas para sensibilizar tumores para realização de quimioterapia e radioterapia com uma melhor resposta. Já para faixas acima de 50 °C, as temperaturas são citotóxicas e causam ablação celular (American Cancer Society – ACS, 2022). Assim, métodos não invasivos para aferição de temperatura são necessários para práticas clínicas mais seguras e, por isso, têm sido investigados por diversos grupos.

Com o objetivo de abordar esse problema, algumas formas não invasivas para aferição de temperatura começaram a ser investigadas por técnicas como ressonância magnética, radiometria por micro-ondas e magnética (ARTHUR *et al.*, 2003). Nesse contexto, devido a suas vantagens de custo e acesso, sinais e imagens de ultrassom se mostraram um método com potencial para serem investigados, por isso seus parâmetros e suas correlações com a mudança de temperatura têm sido objeto de estudo desde 1994, por Straub e seu grupo, a fim de avaliar sua viabilidade (STRAUBE *et al.*, 1994).

Em busca desse objetivo, o grupo do Laboratório de Ultrassom do Programa de Engenharia Biomédica da COPPE/UFRJ começou seus estudos visando correlacionar a dança dos parâmetros ultrassônicos de tecidos biológicos ou de materiais que mimetizassem suas características acústicas (*phantom*) e o aquecimento. Em 2014, os achados publicados por Teixeira et al. demonstraram que o nível de cinza das imagens em modo-B está correlacionado às modificações observadas na intensidade de energia retroespalhada durante a variação de temperatura, se tornaram o parâmetro que norteou as demais pesquisas até a atualidade (ARTHUR *et al.*, 2003; ALVARENGA, 2010; TEIXEIRA *et al.*, 2014).

Mais tarde, também utilizando como base a teoria da mudança da energia de retroespalhamento – *Change of Backscatter Energy* (CBE), esse grupo propôs uma nova modalidade de imagem de ultrassom em que, monitorando a variação de temperatura de uma amostra, é possível obter uma nova imagem que apresente um maior nível de detalhamento de estruturas chamada de “Imagem de ultrassonografia baseada em CBE”- C*BE-based ultrasound imagin*g (CBEUS). A partir do aquecimento de uma amostra de

tecido biológico, observaram as alterações já relatadas na literatura na escala de cinzas dos pixels contidos nas imagens e através de processamento dessas informações é possível criar uma nova imagem (TEIXEIRA *et al.*, 2014) como será descrita na seção 2.3 desse trabalho.

Dando continuidade aos estudos iniciados em colaboração com o Dr. Teixeira (Universidade de Coimbra, Portugal), este trabalho foi desenvolvido a fim de explorar os detalhes das alterações ocorridas nos níveis de cinza dos pixels das imagens ultrassônicas modo-B de amostras de tecidos *ex vivo*, submetidos à variação de temperatura. Com isso, objetiva-se extrair informações que permitam que a temperatura possa ser monitorada a partir de imagens de ultrassom. O presente trabalho se propõe principalmente a avaliar as variações ocorridas na curva de CBE correlacionadas ao nível de cinza das imagens, a fim de caracterizar a mínima região onde essas mudanças são observadas e averiguar se há um padrão que permita definir uma temperatura a partir da imagem modo-B obtida.

1.1 Objetivos

Avaliar a variação da escala de cinza das imagens ultrassonográficas de tecidos adiposos e musculares *ex vivo* durante o seu aquecimento, em função de conjuntos com diferentes quantidades de pixels.

1.2 Objetivos específicos

- Analisar sinal das imagens de US de tecido muscular e adiposo em função do incremento de temperatura;
- Caracterizar a mínima região (conjunto de pixels mínimo) em que seja possível observar a variação da escala de cinza de forma consistente;
- Verificar a possibilidade de classificar os tecidos na imagem ultrassônica a partir da região caracterizada;

- Verificar a possibilidade de correlacionar a variação de temperatura de aquecimento dos tecidos com a escala de cinza obtida.

1.3 Estrutura do trabalho

O presente trabalho foi dividido em sete capítulos, sendo eles: introdução, fundamentação teórica, revisão da literatura, materiais e métodos, resultados, discussão e conclusões.

No capítulo 2 são abordados os conceitos teóricos necessários para a compreensão do trabalho, sendo apresentados, inicialmente, os princípios físicos da geração do ultrassom e em seguida são abordados os princípios da formação de imagem de ultrassom modo-B e, por fim, o processamento para formação de imagem CBEUS.

O capítulo 3 consiste em uma revisão da literatura abordando os princípios de formação de imagem de US, teoria de retroespalhamento e os estudos que trouxeram as afirmações que são base desse trabalho.

No capítulo 4 tem-se a exposição dos materiais e métodos, com descrição de como foram obtidas as imagens do banco de dados utilizado, bem como o desenvolvimento para o processamento de sinais das imagens.

O capítulo 5 apresenta os resultados das análises das imagens obtidas através de um banco de dados.

O capítulo 6 discute os resultados, incluindo levantamento de hipóteses e futuros passos.

No capítulo 7 são expostas as conclusões do trabalho.

2 Fundamentação teórica

2.1 Princípios físicos do ultrassom

O ultrassom (US) é uma onda mecânica com frequência acima de 20 kHz, ou seja, acima da faixa de audição humana que, necessita de um meio para se propagar (FISH, 1990).

Uma onda sonora, ao ser emitida, gera oscilação das partículas presentes no meio. A transmissão do som é realizada através dessa vibração que gera a interação de partículas vizinhas sucessivamente. Assim, há transmissão de energia sem alteração de massa (FISH, 1990).

Uma vez que o US interage com as partículas do meio, pode-se concluir que as propriedades elásticas deste, bem como sua densidade, interferem diretamente na propagação da onda, fazendo com que a propagação em fluidos ou sólidos possa ocorrer de forma diferente. A equação de propagação de uma onda plana é representada pela seguinte equação diferencial de segunda ordem, em que p representa a pressão acústica, c a velocidade de propagação da onda, , r o vetor posição e t o tempo.

$$\nabla^2 \vec{p}(r,t) = \frac{1}{c^2}\frac{\partial^2}{\partial t^2}\vec{p}(r,t), \tag{1}$$

a velocidade de propagação, c, depende da densidade ρ e da compressibilidade do meio κ, obedecendo a seguinte equação:

$$c = \sqrt{\frac{1}{\rho\kappa}}. \tag{2}$$

A onda pode se propagar de duas formas: longitudinal, quando as partículas oscilam na mesma direção da propagação, ou transversal (ou de cisalhamento), quando a oscilação ocorre perpendicular à direção da propagação (PEDROSA, 2016).

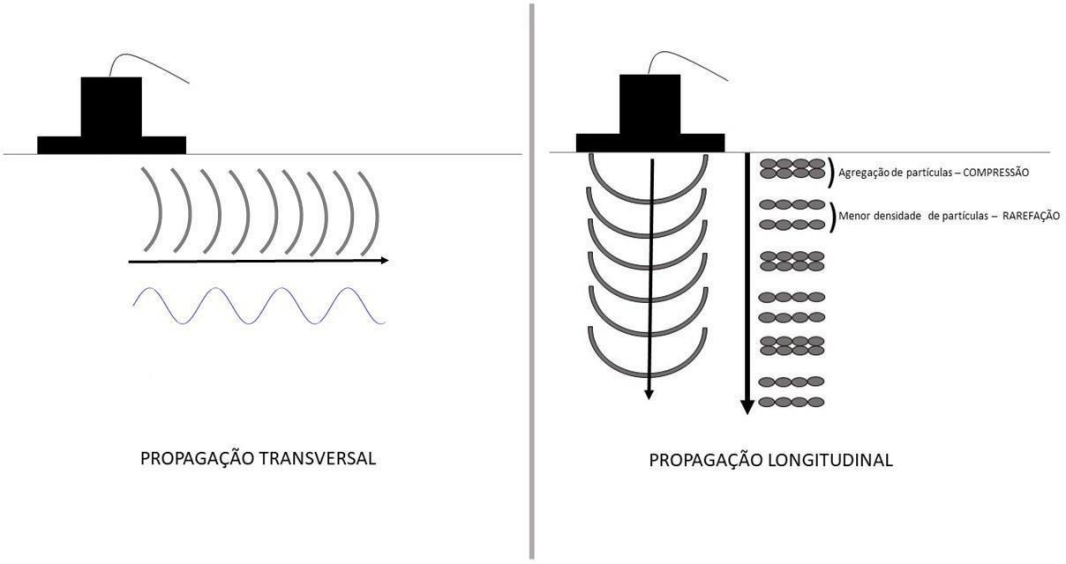


Figura 1. Formas de propagação de onda ultrassônica.

A propagação da onda conta com fenômenos como: reflexão, refração, difração, absorção, espalhamento que ocorrem em função das propriedades do meio de propagação. Neste trabalho serão apresentados de forma breve, os fenômenos mais diretamente relacionados à formação de imagem ultrassônica.

Uma propriedade importante dos materiais e, consequentemente, dos tecidos biológicos que influencia diretamente na propagação do som é a impedância acústica (Z), que caracteriza a resistência à passagem do som em um meio, medida em kg m^{-2} s^{-1}, conforme a equação 3 a seguir, em que ρ se refere à densidade, medida em kg m^{-3} e c, à velocidade de propagação da onda, medida em m s^{-1}.

$$Z = \rho c \tag{3}$$

Os fenômenos de reflexão e transmissão dependem diretamente da impedância acústica. Quando há diferença entre as impedâncias de dois meios, uma porcentagem da energia acústica emitida é refletida, ou seja, retorna ao meio de origem conservando sua frequência e velocidade (GUIRRO, GUIRRO, 2002), conforme a equação:

$$\%R = \left(\frac{Z_2 - Z_1}{Z_2 + Z_1} \right)^2 \times 100 \quad , \tag{4}$$

Enquanto outra porcentagem da energia emitida é transmitida para o meio seguinte, de acordo com a equação 5.

$$\%T = \left(\frac{4Z_2 Z_1}{(Z_2 + Z_1)^2} \right) \times 100 \tag{5}$$

Quando essa transmissão acontece em um ângulo de incidência diferente de 0, em relação ao eixo perpendicular, ocorre a refração.

Ao emitir uma onda e esta atingir um meio que contenha partículas em sua composição, ocorre um fenômeno denominado espalhamento (*scattering*), que é dependente da heterogeneidade do meio e da razão entre a dimensão das partículas espalhadoras e o comprimento de onda emitido. O espalhamento ocorre quando o comprimento de onda emitido é da ordem da dimensão da partícula, ou quando a superfície de reflexão é heterogênea (FISH,1990). Uma vez espalhada, as ondas podem atingir outras partículas que também passam a espalhar e assim sucessivamente, atingindo toda uma região irradiada pelo ultrassom como exemplificado na Figura 2 (PEDROSA, 2016).

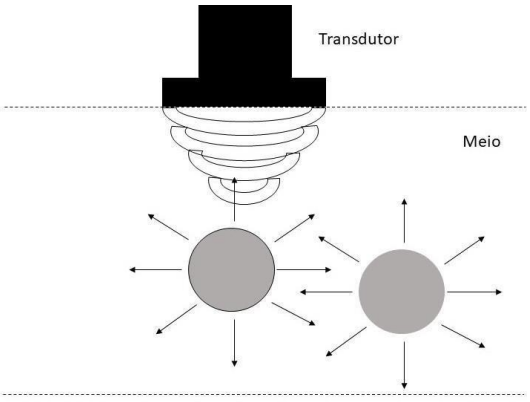


Figura 2 – Espalhamento de energia ultrassônica- Comprimento de onda da ordem da dimensão partícula fazendo com que haja o espalhamento multidireconal, atingindo

outras partículas e fazendo com que apenas uma parte do sinal de ultrassom espalhado possa ser captado pelo transdutor (backscatter).

Essa característica é importante para geração de imagens de ultrassom, pois a interferência das ondas causada por *espalhamento* pode gerar artefatos granulares conhecidos como *speckle,* o que degrada a resolução espacial e o contraste das imagens. Porém, ao se tratar de tecidos biológicos, o *speckle* está associado à microestrutura do parênquima do tecido envolvido, o que acaba se tornando uma maneira de caracterização do meio.

A absorção do feixe ultrassônico é responsável pela geração de calor, histerese e viscosidade e, juntamente com o fenômeno de espalhamento, faz com que o sinal de ultrassom seja atenuado durante sua transmissão, ou seja, perca intensidade ao se propagar. Esses dois fenômenos são os principais componentes da atenuação. Esta pode ser modelada como uma função exponencial, gerando um coeficiente de atenuação específico para cada meio de propagação, sendo este um parâmetro importante para caracterização do meio.

2.2 Formação de Imagem de Ultrassom

Aparelhos de ultrassonografia geram imagens com base na técnica chamada de pulso-eco. São compostos por um transdutor com elementos piezoelétricos, que realizam a conversão de energia elétrica em energia mecânica para emitir um pulso e recebê-lo de volta, fazendo o processo inverso, tornando-se, assim, o transdutor transmissor e receptor (WELLS, 1977).

Ao ser excitado periodicamente por um pulso, o transdutor recebe de volta um eco, chamado sinal de radiofrequência (RF)*, que contém informações sobre a interação da onda acústica com os meios atingidos, fazendo com que seja possível a interpretação desses sinais a partir de seu processamento, obtendo-se informações sobre a estrutura e a composição física das regiões atingidas (FISH, 1990, cap 1).

A instrumentação mais simples para obtenção e interpretação do eco é conhecida como dispositivo de modo-A (Fig.3), na qual um gráfico de amplitude versus tempo é formado, por isso é conhecido como modo de “amplitude”. Segundo FISH (1990), pode-se assumir a velocidade média de propagação da onda de ultrassom em tecidos

*O termo RF é utilizado quando queremos fazer referência ao sinal de ultrassom sem tratamento, recebido conforme refletido e espalhado pelo meio.

moles, aproximadamente 1540 m s^{-1}e, assim, o tempo entre a emissão de um pulso e a recepção do eco pode ser utilizado para mensurar a profundidade do meio atingido.

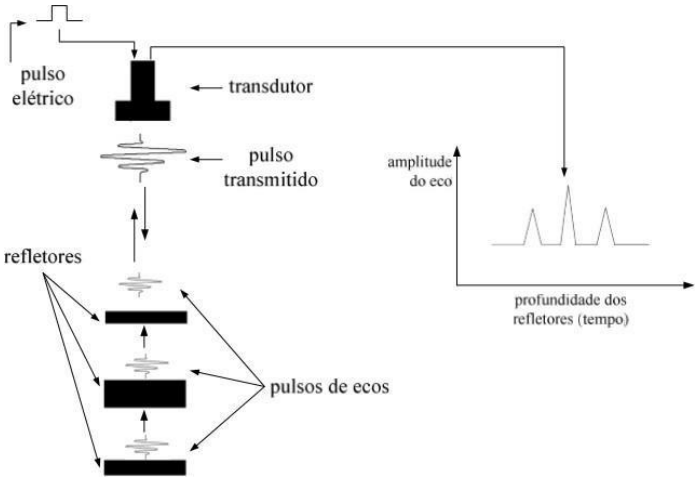


Figura 3 – Dispositivo Modo-A (LEE et al., 2010)

As imagens em modo-B, conhecido como modo de "brilho", são bidimensionais formadas a partir da interpretação de um conjunto de linhas de modo-A. De forma breve, os passos para a formação da imagem são: A linha em modo-A corresponde a um percurso desde a superfície onde está o transdutor até uma determinada profundidade. A linha-A é digitalizada (com alguns processos envolvidos), tornando-se uma sequência de pontos em uma escala de cinzas (256 níveis de brilho) e irá compor uma linha da imagem. Linhas em modo-A obtidas em posições consecutivamente vizinhas são tratadas da mesma forma.

A colocação de uma série de linhas modo–A dispostas contiguamente gera a imagem em modo-B. As principais etapas do processamento para obtenção de imagem em modo-B estático estão representadas na Figura 4 a seguir de FISH.

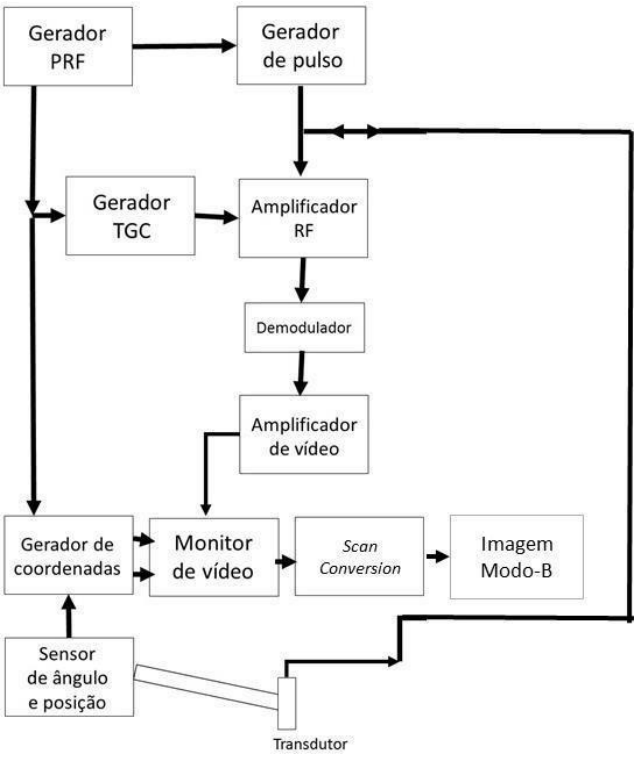


Figura 4 – Diagrama de blocos Modo-B estático (FISH, 1990)

Uma vez digitalizadas as linhas modo-A e colocadas vizinhas entre si, a imagem passa a ser representada por um mapa bidimensional de níveis de cinza, sendo esses níveis dependentes do número de bits utilizados na digitalização. Logo, em uma representação de 8 bits (1 byte) tem-se 2^8níveis de cinza possíveis, ou seja, uma escala que varia entre 0 e 255. Sendo 0 o valor atribuído a intensidade mais escura e 255 a mais clara. Cada ponto da matriz formada por essa imagem é chamado de pixel e, quanto menor for o tamanho do pixel, maior será a resolução da imagem, dando origem a imagens de ultrassom utilizadas como forma de diagnóstico, como na Figura 5.

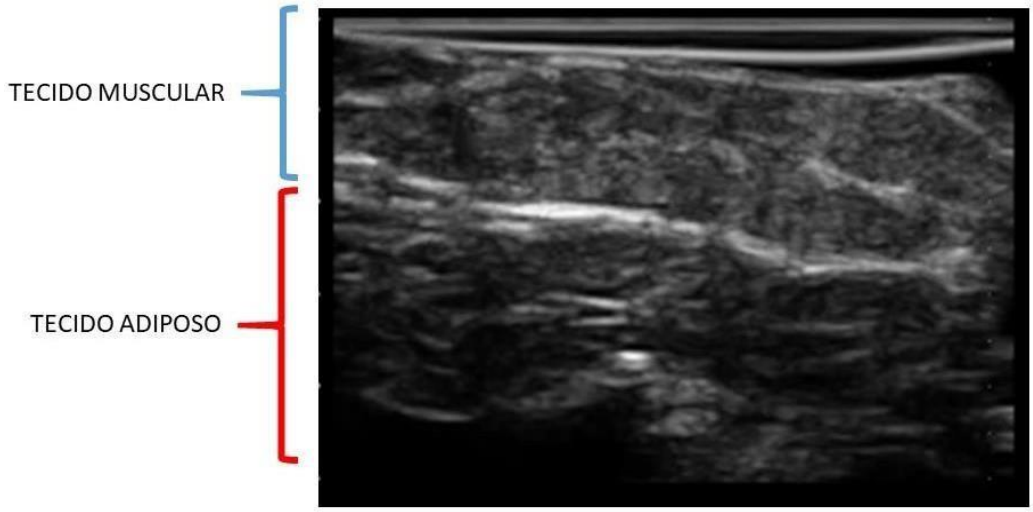


Figura 5 – Imagem de ultrassom Modo-B de tecido muscular de porco na porção proximal da imagem, seguido por camada de gordura.

2.3 Formação de imagem com base nas mudanças da energia de retroespalhamento

Teixeira e colaboradores em 2014, a partir de seus estudos anteriores, deram início a uma pesquisa para formação de uma nova imagem de ultrassom, com base na Variação da Energia de Retroespalhamento (CBE – *Change on Backscattered Energy*), conforme as equações propostas por Straube e Arthur (1994). Segundo essa teoria, partículas espalhadoras com caraterísticas próximas à da água (como as do tecido muscular) diminuem sua energia de espalhamento com o aumento de temperatura e espalhadores com características tendendo à gordura, aumentam sua energia de espalhamento com o aumento de temperatura. O modelo de CBE em função da temperatura proposto por Straube e Arthur está expresso na equação 6 a seguir:

$$CBE(T,T_R) = \frac{\left[\alpha(T_R)\eta(T)\right]\left[1-e^{-2\alpha(T)x}\right]}{\left[\alpha(T)\eta(T_R)\right]\left[1-e^{-2\alpha(T_R)x}\right]} \quad (6)$$

Em que T é a temperatura, T_R a temperatura de referência e x é a distância percorrida pela onda de ultrassom no meio. Deixando claro que a variação de CBE relacionada ao incremento de temperatura é dependente da atenuação (α) e do coeficiente de retroespalhamento (η). Assumindo que, para uma faixa de temperatura entre 37 °C e 50°C, o número de onda (k=2π/λ) varia menos que 1,5%, a atenuação é praticamente constante, a densidade pode ser considerada independente da temperatura e o coeficiente de retroespalhamento para uma população de espalhadores é proporcional ao coeficiente de um único dispersor. Assim, a equação 7 foi proposta a fim de explicitar a maior dependência entre a energia de retroespalhamento e a velocidade do som em uma faixa de temperatura definida. A normalização realizada em relação a um valor de base e uma temperatura de referência faz com que a dependência de temperatura da energia retroespalhada seja simplificada, permitindo que fatores com pouca ou nenhuma dependência de temperatura sejam ignorados (ARTHUR *et al.*, 2003):

$$CBE(T,T_R) = \frac{\eta(T)}{\eta(T_R)} = \frac{\left(\frac{\rho_m c_m(T)^2 - \rho_s c_s(T)^2}{\rho_s c_s(T)^2}\right)^2 + \frac{1}{3}\left(\frac{3\rho_s - 3\rho_m}{2\rho_s + \rho_m}\right)^2}{\left(\frac{\rho_m c_m(T_R)^2 - \rho_s c_s(T_R)^2}{\rho_s c_s(T_R)^2}\right)^2 + \frac{1}{3}\left(\frac{3\rho_s - 3\rho_m}{2\rho_s + \rho_m}\right)^2}. \quad (7)$$

em que ρ_s e $c_s(T)$ são, respectivamente, a densidade e a velocidade do som dos espalhadores de um tipo dado, e ρ_m e $c_m(T)$ são, respectivamente, a densidade e a velocidade do som dos espalhadores contidos no meio.

Com base nesses conhecimentos, Teixeira e colaboradores desenvolveram *phantoms* numéricos com diferentes distribuições de espalhadors aquosos e lipídicos para simulação de imagens denominadas CBEUS (*CBE - based ultrasound imaging*). Cada *phantom* de formato esférico contém um centro com raio de 2 mm e regiões circulares adjacentes com

espessura de 2 mm cada, contendo dispersores lipídicos e aquosos

intercalados, como observado na Figura 6, em que a camada mais externa é formada por dispersores aquosos.

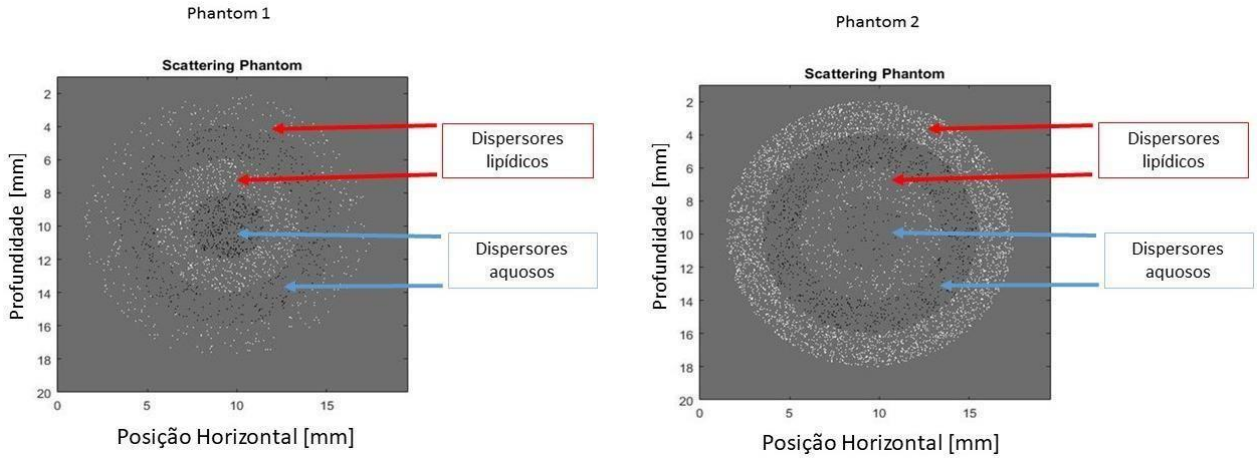


Figura 6 – Phantoms numéricos com diferentes quantidades de dispersores distribuídos concentricamente e intercalando dispersores lipídicos e aquosos, em um meio de água para simulação de imagens CBEUS. (PASTRANA-CHALCO 2017)

O *phantom* 1 possui menor concentração de dispersores na coroa circular externa de dispersores lipídicos, enquanto o *phantom* 2 possui o maior número de dispersores nessa mesma região.

Para simulações foram consideradas as propriedades de espalhamento contidas na Tabela 1 e as equações de velocidade (equação 8) para os meios utilizados.

Tabela 1 - Propriedades dos meios para simulação.

Meio	**Densidade (ρ)** (kg m^{-3})	**Atenuação (α)** (dBcm^{-1} MHz^{-1})
Dispersores aquosos	1065	0,9
Dispersores Lipídicos	950	0,6
Água	1000	0,002

$$c_\alpha(T) = 1471.4 + 3.9979T - 0.03513T^2$$
$$c_l(T) = 1810.7 - 13.892T + 0.1016T^2 ,$$
$$c_w(T) = 1402.4 + 5.039T - 0.057791T^2$$

(8)

Em que T(°C) é a temperatura em graus Celsius, c_α, c_l e c_w a velocidade do som para os meios aquoso, lipídico e água em (m/s), respectivamente (TEIXEIRA *et al.*, 2018).

A partir das equações apresentadas, Teixeira et al. (2019) simularam imagens modo-B convencionais dos phantoms numéricos, para a faixa de 27° a 44 °C. Em seguida foi realizado o processamento para a obtenção da imagem CBEUS. Primeiramente foi obtida uma imagem convencional de ultrassom modo-B correspondente a cada temperatura. Em seguida, inicia-se o estudo do comportamento de cada pixel, considerando a mudança de intensidade durante o incremento de temperatura. Para isso foi proposto um modelo polinomial de primeiro grau definido pela equação:

$$\Delta I_{m,n}(\Delta T) = \alpha_{m,n}\Delta T + b_{m,n} ,$$

(9)

Em que $\Delta l_{m,n}$ (ΔT) é a mudança de intensidade dependente de temperatura para o pixel na posição (m,n), ΔT é a variação de temperatura e $a_{m,n}$ e $b_{m,n}$ são os parâmetros do modelo para o pixel na localização (m,n). Assim, utilizando o método dos mínimos quadrados, foram encontrados valores de $a_{m,n}$ e $b_{m,n}$. Portanto, essa função linear expressa o comportamento de cada pixel ($p_{m,n}$) em função da temperatura. O coeficiente angular para cada pixel foi mapeamento em 2D formando a imagem CBEUS (Figura 7).

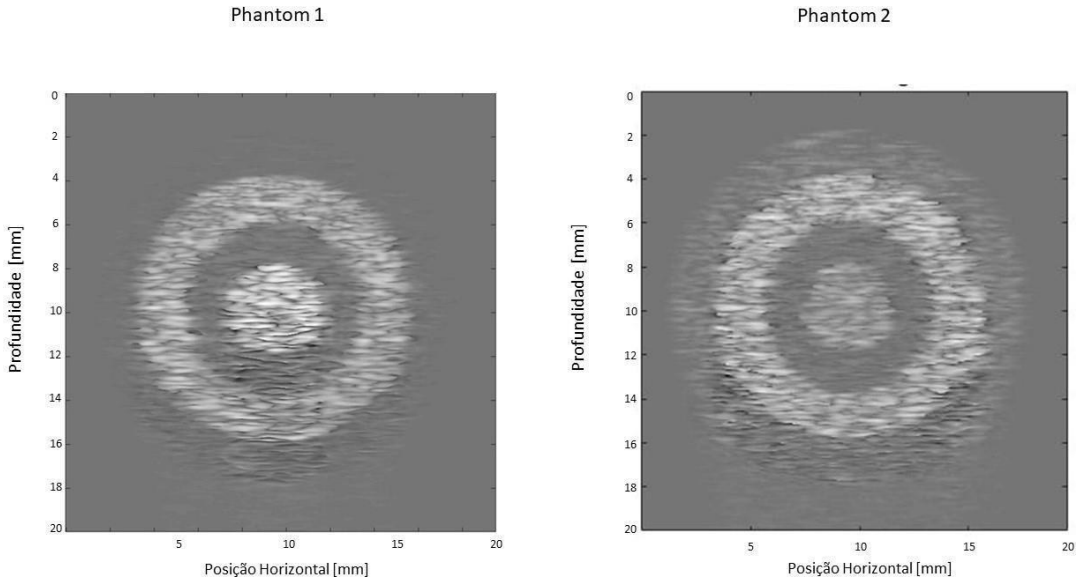


Figura 7– Imagem obtida aplicando o método desenvolvido, utilizando o coeficiente angular obtida do modelo linear para a variação de brilho de cada pixel em função de temperatura (TEIXEIRA et al. 2014).

Na Figura 8 pode-se notar que a modalidade de imagem proposta por TEIXEIRA *et al.* apresentou maior contraste e resolução ao ser comparada com uma imagem obtida em modo – B convencional. É possível observar que as imagens CBEUS apresentam melhor definição das camadas constituídas por diferentes tipos de espalhadores, quando comparadas a imagem modo-B convencional, na qual não é possível identificar o centro da imagem nem a diferença entre a concentração do número de espalhadores quando se comparam os *phantoms* 1 e 2.

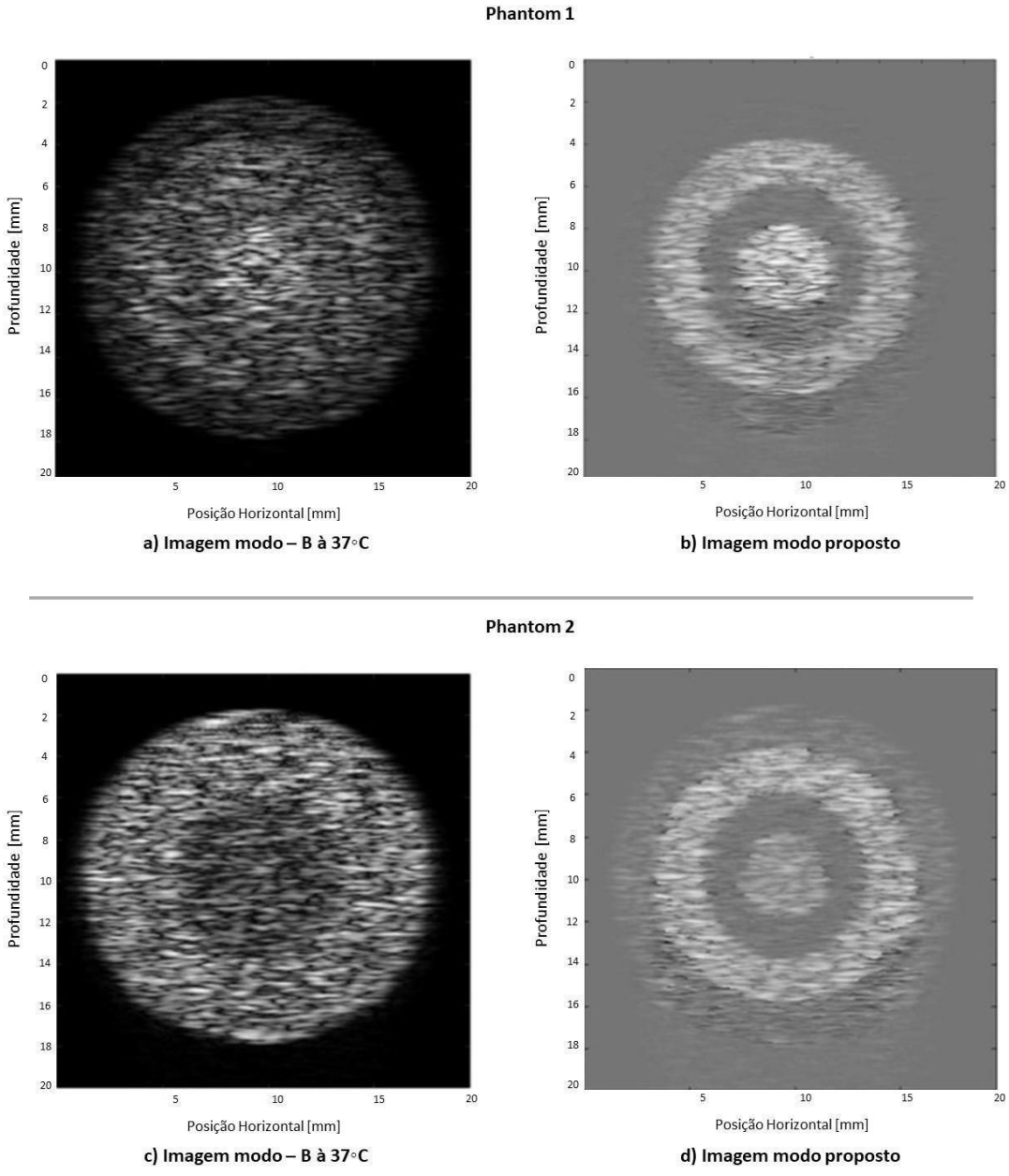


Figura 8 – Comparação das imagens obtidas em modo-B convencional dos phantoms 1 (a) e 2 (c), com imagens CBEUS para mesmos phantons 1 (b) e 2 (d). (PASTRANA-CHALCO 2017)

Fica evidente a importante contribuição no melhoramento do contraste na imagem ultrassônica gerada pela imagem CBEUS, abrindo, assim, campo de estudo para o presente trabalho, em que serão analisados os eventos que ocorrem com grupos pixels nas imagens em modo-B em tecidos biológicos *in vitro*, durante o incremento de temperatura.

3 Revisão da literatura

Diante da importância de técnicas que utilizam diatermia e hipertermia como forma de tratamento para diversos acometimentos do organismo, desde lesões músculo esqueléticas até câncer e das inseguranças em relação a mensuração da temperatura real de aquecimento de tecidos submetidos à termoterapia, fez-se necessário a busca por técnicas capazes de aferir a temperatura da região tratada de forma não invasiva e, de preferência, em tempo real. Muitos pesquisadores buscaram soluções a partir do estudo de técnicas como ressonância, radiometria por micro-ondas e magnética (ARTHUR *et al.*, 2003). Entretanto, por ser um método mais seguro, de fácil manipulação e baixo custo, estudos com imagens de ultrassom para aferir temperatura vêm sendo desenvolvidos a fim de verificar se esta seria uma técnica adequada, há mais de duas décadas.

Em seu trabalho de 1994, Straube e colaboradores desenvolveram um estudo sobre a dependência entre a temperatura e o coeficiente de retroespalhamento. Sugerindo a possibilidade de usar a alteração da potência de retroespalhamento como forma de rastrear as distribuições de temperatura em um tecido, uma vez que, ao analisar a simulação realizada em dispersores aquosos e dispersores lipídicos em um meio à base de água, durante uma faixa de aquecimento de 35 °C a 50 °C, observaram uma variação de 5 dB para dispersores lipídicos e 3 dB para dispersores aquosos. Em 1998, Simon e colaboradores buscaram estimar, de forma não invasiva, a temperatura e evidenciou-se que a velocidade e a expansão média da massa do meio estudado variam linearmente com a temperatura.

O grupo de Straube, Arthur e colaboradores seguiu com seus estudos e, em 2003, publicou seus achados em relação ao monitoramento da curva de CBE na faixa de hipertermia (37 °C a 50 °C), a partir da análise de amostras de fígado bovino, costela de porco e musculatura da região peitoral de peru frescas e descongeladas, imersas em água. Identificaram um padrão de mudança de energia retroespalhada, em que tecidos de base lipídica apresentaram incremento na curva CBE, enquanto tecidos com maior número de espalhadores aquosos apresentaram queda, ambos de forma monotônica.

Concomitante a esses achados, Teixeira e colaboradores desenvolveram um modelo com esquema de previsão de temperatura de forma pontual com desempenho melhor que os resultados apresentados em literaturas anteriores, utilizando uma estratégia de redes neurais.

Em uma revisão de 2005, Arthur e colaboradores sugeriram que CBE seria o parâmetro adequado para estimativa de temperatura, já que a dependência entre a velocidade do som e a temperatura que era a base de trabalhos anteriores, entre outros problemas, se torna de difícil monitoramento, pois essa dependência muda de acordo com o tipo de tecido. Além disso mostraram que os estudos do comportamento da atenuação durante o aquecimento só apresentaram diferença significativa em temperaturas acima de 50°C, ou seja, fora da faixa de diatermia e hipertermia geralmente utilizada. Assim a investigação da mudança de energia retroespalhada ganhou mais ênfase.

Em 2008, Trobaugh *et al.* desenvolveram um modelo para simular a dependência da temperatura no sinal retroespalhado para amostras com variados dispersores através da equação dessa dependência simplificada pela normalização em relação a um valor de referência de temperatura de 37°C, o que permite que fatores com pouca ou nenhuma dependência sejam ignorados e que os valores de densidade de massa e velocidade do som possam ser extraídos e utilizados para gerar curvas representado a dependência do coeficiente de retroespalhamento e a variação de temperatura (equação 7, sessão 2.3). Nesse mesmo ano Teixeira e colaboradores dando continuidade aos achados de 2006, através de experimentos com *phantoms* à base de gel imerso em água e aquecido por ultrassom terapêutico com frequência de 1 MHz, conseguiram desenvolver um modelo para extrair parâmetros sem a necessidade de qualquer simplificação matemática e determinação física constante. Isso faz com que as técnicas computacionais para se estimar a temperatura no domínio espaço-tempo utilizem um processamento computacional mais simples. Utilizando esses métodos computacionais, em 2010, esse mesmo grupo relatou pela primeira vez na literatura um experimento com estimativa de temperatura para meios não homogêneos, em um *phantom* com múltiplas camadas com propriedades acústicas semelhantes às

encontradas em tecidos biológicos. Porém para uso dessa metodologia é necessário o conhecimento das propriedades térmicas, fazendo com que esse estudo fosse ponto de partida para o desenvolvimento de modelos mais eficazes.

Uma vez que a energia retroespalhada é uma das bases da formação de imagens de ultrassom, pode-se concluir que as mudanças em suas características são observadas nas imagens formadas em modo-B. A partir dessa afirmação Alvarenga e seus colaboradores do grupo de Teixeira, publicou um trabalho em que, experimentos com *phantoms* simulavam as características acústicas de tecido muscular *in vivo* aquecidos em uma faixa de temperatura de 27°C a 44°C, estudaram a possibilidade de utilizar os parâmetros obtidos a partir da mudança que ocorria no nível de cinza das imagens de modo-B para melhorar o método de estimativa de temperatura. E a partir daí outros estudos das mudanças ocorridas na curva de CBE foram desenvolvidos. Em 2013 Teixeira et al. apresentaram um trabalho em que, fez-se uma análise do valor de cinza em função da temperatura pixel a pixel de imagens de músculo bovino e suíno e gordura suína *ex vivo*, aquecidos na faixa de 36°C a 44°C, permitindo com que fossem extraídas a tendência de variação de intensidade de cada pixel correlacionado com a temperatura média. Em 2014, dando continuidade a essa investigação, esse mesmo grupo desenvolveu mapas bidimensionais de temperatura para o estudo do aquecimento de amostras frescas de músculo bovino realizado por ultrassom terapêutico e por banho maria, observaram que em diferentes regiões a intensidade dos pixels investigados que foi apresentada na imagem modo-B se comportou da mesma forma que a curva de CBE na presença de diferentes espalhadores, apresentando correlações positivas e negativas com a variação de temperatura, o que se tornou base para o desenvolvimento da presente dissertação e alavancou estudos do processamento de imagem para sua melhoria.

Norteados pelos achados em relação à mudança de intensidade dos pixels das imagens, o grupo do Laboratório de Ultrassom do PEB/COPPE, em colaboração com Teixeira, iniciou investigações a fim de encontrar um método que promovesse o melhoramento da imagem de ultrassom em modo-B, dando a ela uma melhor definição de estruturas, através de perturbações do meio. E em 2018, o grupo publicou o trabalho em que, usando a informação de que quando há alteração da temperatura a diferença de

impedância pode ser aumentada, mostraram que, através de um ajuste polinomial de primeira ordem, aplicado pixel a pixel pode-se extrair informações sobre as alterações de CBE. Tais alterações, quando representadas em uma grade bidimensional, dão origem a uma imagem paramétrica CBEUS que foi descrita na sessão 2.3 deste trabalho. Foram esses experimentos que geraram as imagens do banco que serão aqui utilizadas para dar continuidade ao estudo do comportamento dos pixels durante o aquecimento

4 Material e métodos

A presente pesquisa consiste em um estudo analítico-descritivo das alterações das escalas de cinza de imagens ultrassônicas de tecidos expostos a diferentes temperaturas, em que se estuda o comportamento dos pixels contidos em cada imagem ultrassônica durante o aquecimento. É uma das linhas de pesquisa do Laboratório de Ultrassom do PEB/COPPE e conta com a participação do Dr. César Teixeira, da Universidade de Coimbra (UC).

A parceria entre COPPE e UC gerou a pesquisa que correlaciona imagem de ultrassom em função da temperatura, atualmente tema central do doutorado de Mário Edmundo Pastrana Chalco, aluno em regime de cotutela entre ambas as instituições. Os resultados preliminares sugerem que a mudança de temperatura resulta em mudanças coerentes do sinal retroespalhado, indicando que o tema merece ser mais bem explorado. Assim, o referido doutorando montou um banco de imagens ultrassônicas em função da temperatura, usado essa dissertação. Além do banco de imagens, foi também disponibilizado o programa para processamento implementado em MATLAB (MatWorks®), que formam o material base para essa pesquisa.

4.1 Obtenção das imagens

Uma amostra fresca de tecido de porco com 2,5 cm de espessura e uma área de $5cm^2$contendo camadas de tecido adiposo e muscular foi coletada e submetida a aquecimento no sistema da Figura 8, para aquisição de imagem em modo-B convencional.

Para minimizar a interferência dos demais tecidos existentes em cada amostra, estas foram posicionadas no sistema de aquecimento de forma que o tecido de interesse, adiposo ou muscular, estivesse mais próximo da face do transdutor ultrassônico, ou seja, uma só amostra ora posicionada com a região contendo majoritariamente tecido adiposo

voltada para o transdutor, ora com a região com maior parcela de tecido muscular. Assim as regiões estarão representadas sempre na parte superior da imagem.

A fim de replicar a variação de temperatura fisiológica, a faixa de temperatura utilizada para esse estudo foi de 35 °C a 42 °C.

Para realização do experimento de forma controlada, foi desenvolvida uma câmara de PVC contendo água, um suporte de alumínio e um tubo de cobre em forma espiral conforme o esquema mostrado na Figura 8. As amostras foram submetidas a um banho com temperatura controlada, no qual um tubo de cobre é responsável pelo aquecimento da água, permitindo uma variação de temperatura entre 35°C e 42 °C. Um termopar do tipo J alinhado com aquisição de imagem foi inserido na amostra para que sua temperatura fosse monitorada. Um aparelho de ultrassom (SonixMDP, Ultrasonix, 10 British Columbia, Canadá) com transdutor linear de 128 elementos (L14-5/38, Ultrasonix, British Columbia, Canadá) para gerar imagens em modo-B e com frequência central de 10 MHz foi acoplado à amostra. Por fim, utilizou-se de uma caixa de poliestireno para vedar o sistema e minimizar os efeitos de flutuação da temperatura externa. Os experimentos foram feitos no Laboratório de Ultrassom do PEB/COPPE, pelo doutorando Mario Pastrana-Chalco.

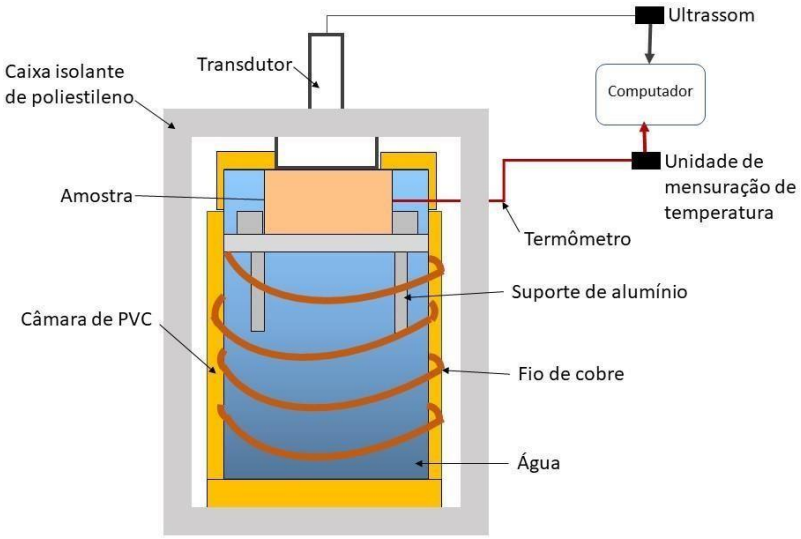


Figura 8 - Configuração experimental para aquisição de imagem CBEUS (TEIXEIRA et. al 2014).

Primeiramente, as amostras foram mantidas em repouso por 30 minutos a 35 °C para que houvesse equilíbrio térmico. A partir de então foi realizado um incremento de 1°C por vez e a temperatura em cada nível foi mantida constante por 5 minutos para que se tornasse estável. Ao final desse período, um vídeo de 5 segundos de duração a 30 quadros por segundo foi adquirido. Esse processo foi repetido até que fosse alcançada a temperatura final de 42 °C. Durante todo experimento as informações de temperatura da amostra foram coletadas a cada 5 segundos.

Um programa CamStudio (CamStudio.org), distribuído gratuitamente sobre licença pública (*GNU General Public License*), foi utilizado para aquisição dos vídeos, com o qual, após uma região da tela ser selecionada para ser salva, cada pixel da imagem modo-B foi codificado e convertido em uma escala de cinza digitalizando em 256 níveis. Após adquiridos, os vídeos foram processados para que fosse obtida uma imagem representativa de cada temperatura como descrito na sessão a seguir.

4.2 Processamento das imagens

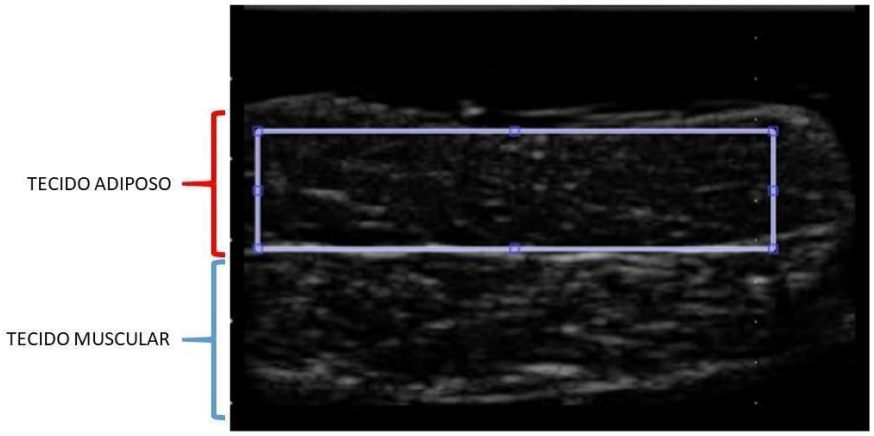
Os dados experimentais coletados foram exportados para serem processados em

um bloco de funções inicialmente desenvolvido por Pastrana-Chalco em MATLAB (MatWorks®) e adaptado para abordar as hipóteses deste trabalho.

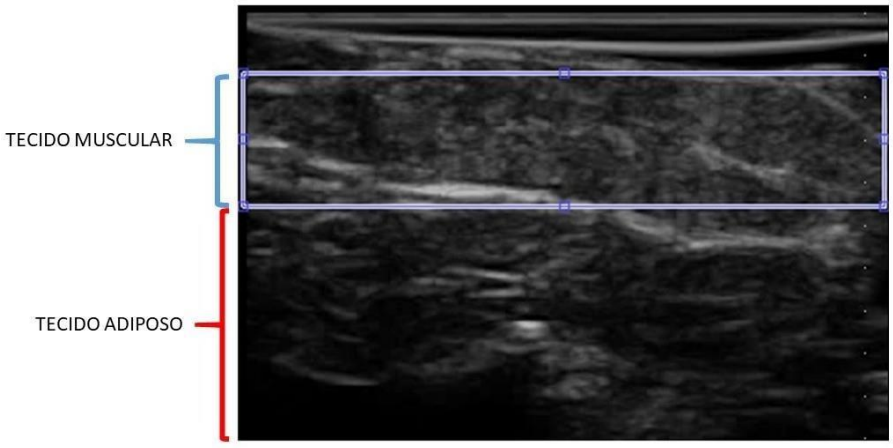
Foi realizada a média de quadros (*frames*) de cada vídeo de 5 segundos, para queapenas uma imagem de cada temperatura fosse obtida para, a partir de então, começarem as análises do comportamento dos pixels.

Primeiramente delimitou-se na imagem uma região de interesse (ROI – *Region of interest*) controle que contivesse a maior parte da amostra onde houvesse majoritariamente tecido adiposo ou tecido muscular, uma vez que não se pode garantir que a região selecionada contenha apenas um tipo de tecido. Como mencionado anteriormente, estão sempre na parte superior da imagem.

Assim, uma ROI controle de tamanho 80x360 pixels foi selecionada em imagens de tecido adiposo e uma ROI contendo 96x461 pixels para imagens de tecido muscular. Cada uma delas está demonstrada na Figura 9.



a) ROI controle Tecido Adiposo – 80 x360 pixels



b) ROI controle Tecido Muscular – 96 x 461 pixels

Figura 9- ROI controle de tecido adiposo (a), contendo uma área de 80x360 pixels e tecido muscular (b) contendo uma área de 96x461 pixels.

A partir dessa seleção, a ROI foi convertida em uma matriz numérica de acordo com o valor da intensidade de escala de cinza dos pixels, com uma variação de 0 a 255, com 0 representando o tom preto e 255 o branco. Como são oito temperaturas, tem-se oito matrizes a serem analisadas concomitantemente para cada ROI. A partir desse ponto, pode-se acompanhar a evolução do brilho de um mesmo pixel ao longo da variação da temperatura (Fig. 10a) e realizar regressões lineares, como já explicado anteriormente. Entretanto, como o propósito desse trabalho é verificar qual o conjunto mínimo de pontos (grupo de pixels) pode ser usado para estudar o comportamento da variação de temperatura de modo consistente, foram propostas a análises das imagens conforme a seguir (Figura 10b):

- Análise de cada linha como uma sub-ROI independente;
- Análise cumulativa por linha, iniciando a partir da primeira linha e acumulando de uma em uma linha;
- Análise de cada coluna como uma sub-ROI independente;

- Análise cumulativa por coluna, iniciando da primeira coluna e acumulando de uma em uma coluna;
- Análise acumulando colunas e linhas.

Cada uma dessas análises ocorreu para um mesmo grupo de pixel (ROI) ao longo das oito imagens obtidas (uma para cada temperatura), como demonstra o esquema na Figura 10a. A média da variação de intensidade que ocorreu em cada ROI foi calculada gerando gráficos Intensidade (brilho) *versus* Temperatura, de acordo com o bloco de análise realizada (linhas, linhas acumuladas, colunas, colunas acumuladas ou linhas e colunas acumuladas) e o número de linhas ou colunas existentes na ROI selecionada (Figura 11). Um gráfico médio dos gráficos obtidos bem como o desvio padrão foram calculados, sendo estes dados utilizados para o presente estudo.

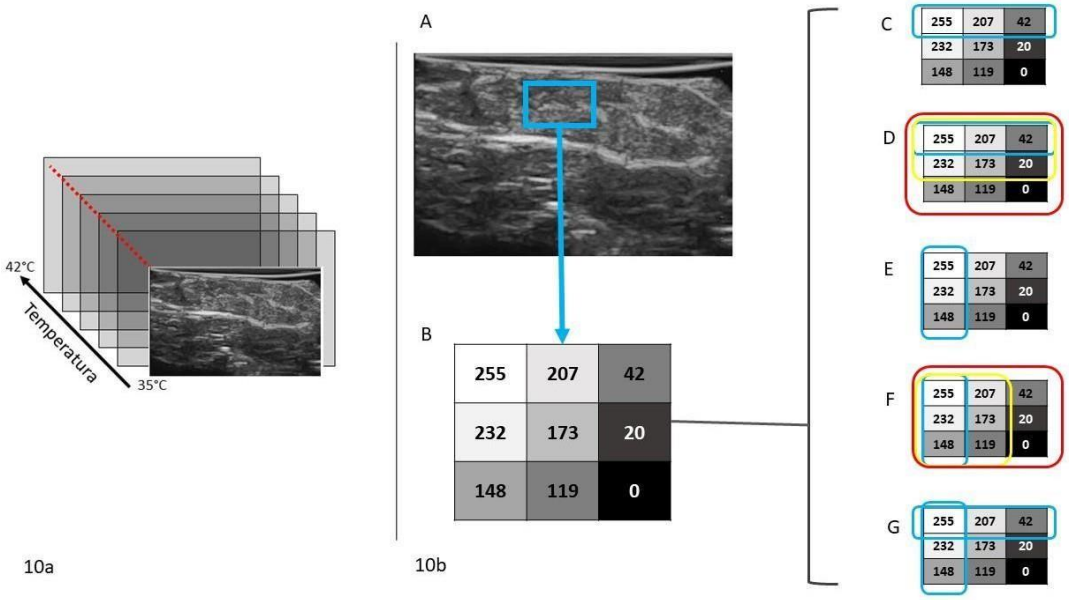
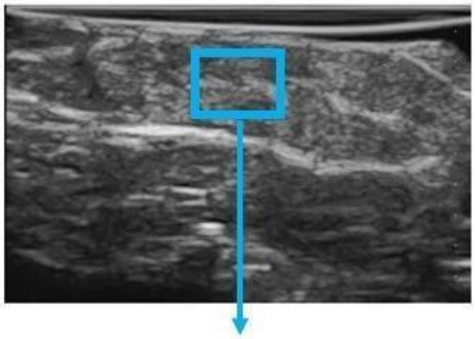
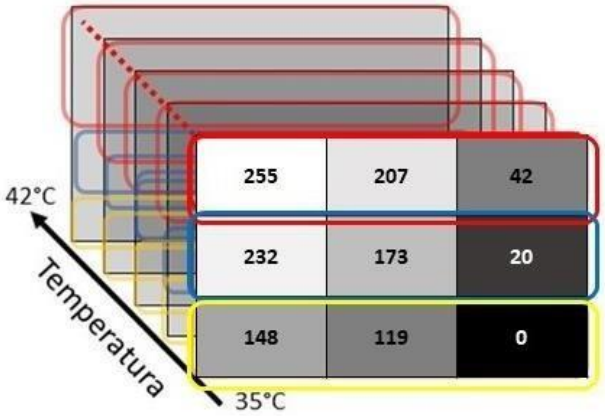


Figura 10 – Esquema demonstrativo das análises realizadas. (10a) Análise de um mesmo pixel ao longo das 8 imagens em diferentes temperaturas. (10b) Esquema de escolha de ROI (A), transformação em uma matriz numérica (B), análise de linha independente (C), análise de linha acumulando de 1 em 1 linhas (D), análise de coluna independente (E), análise de coluna acumulando de 1 em 1 colunas (F), análise acumulando linhas e colunas (G).



255	207	42
232	173	20
148	119	0



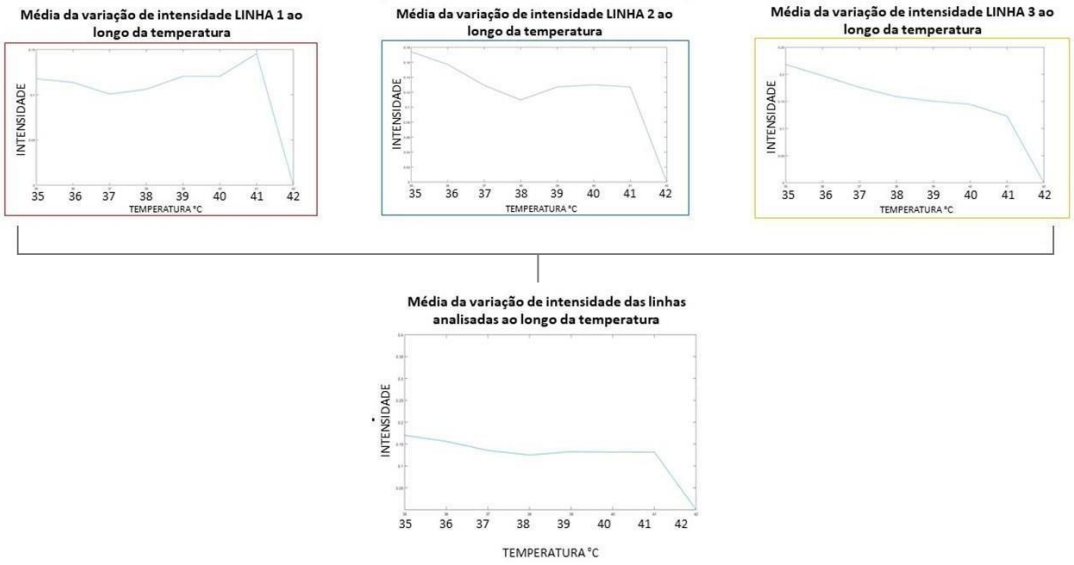


Figura 11 – Exemplo do processamento para análise de linhas. Uma ROI é selecionada, convertida em uma matriz numérica de acordo com a intensidade de brilho da imagem, um gráfico com a média da variação de intensidade ao longo da temperatura (Intensidade versus Temperatura) é gerado para cada linha, após geração dos gráficos individuais para cada linha é gerado um gráfico médio.

Após análises da ROI controle, aquela que contém majoritariamente o tecido de interesse, outras regiões de menor tamanho a partir do centro da região controle foram selecionadas de forma que apresentassem um tamanho quadrado ou retangular contendo um número de colunas maior que o número de linhas, a fim de buscar a menor região que apresente comportamento próximo aos resultados encontrados para o controle. Ao encontrar essas regiões, começou-se uma investigação para retirar uma linha e/ou uma coluna de pixels buscando encontrar uma ROI ainda menor que continuasse apresentando as mesmas características. Esse controle fino foi possível através da função que seleciona a área de interesse através da posição e tamanho pré-definidos na programação usada no Matlab®.

Assim, áreas selecionadas que apresentaram características mais próximas às da região controle com resultado significativo para variação da intensidade do nível de cinza foram selecionadas para análises de equivalência de características com a ROI controle e, posteriormente, variações de menor área utilizando a mesma referência de posição, subtraindo de seu tamanho uma linha ou uma coluna. Sendo elas, 96x100, 90x90, 80x80, 60x60 e 50x50 pixels para imagens de tecido muscular e 80x90, 80x80, 60x60 e 50x50 pixels para tecido adiposo.

As seleções das ROIs nas imagens foram realizadas de forma que o posicionamento das maiores regiões investigadas fosse usado como referência, garantido assim que todas as demais áreas selecionadas estivessem contidas na mesma região da imagem, em um mesmo tecido (Figura 12).

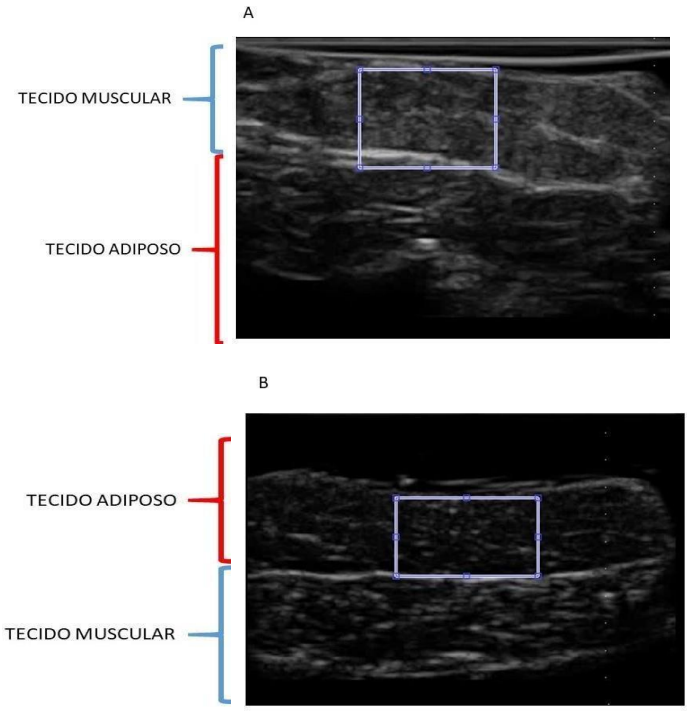


Figura 12 – ROI referência. A) Imagem tecido muscular – 96x100 pixels; B) Imagem tecido adiposo – 80x90 pixels

Para comprovação do relato de Straube e colaboradores em seu trabalho realizado em 1994, em que afirmam que as características dos fatores lipídicos são predominantes quando ambos estão presentes, também realizaram-se as mesmas análises dos dois tecidos nas imagens completas, como mostram os cortes da Figura 12.

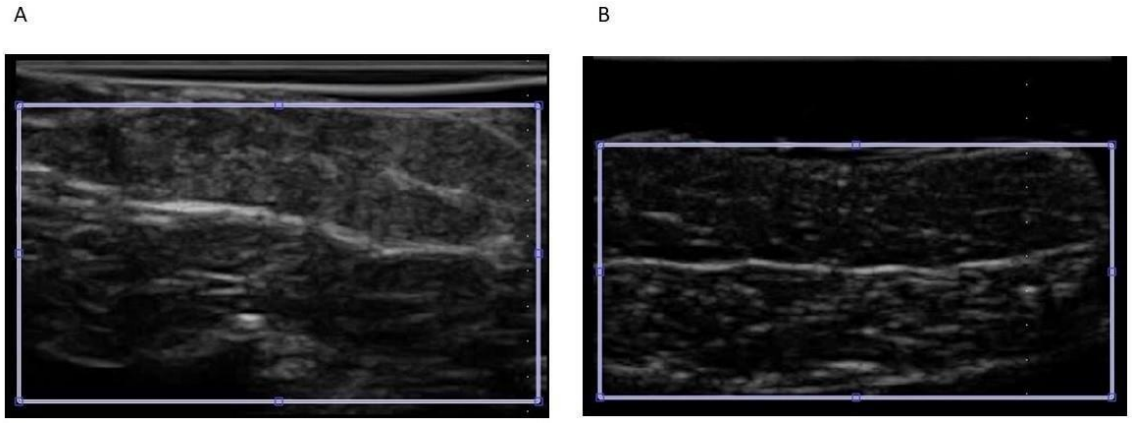
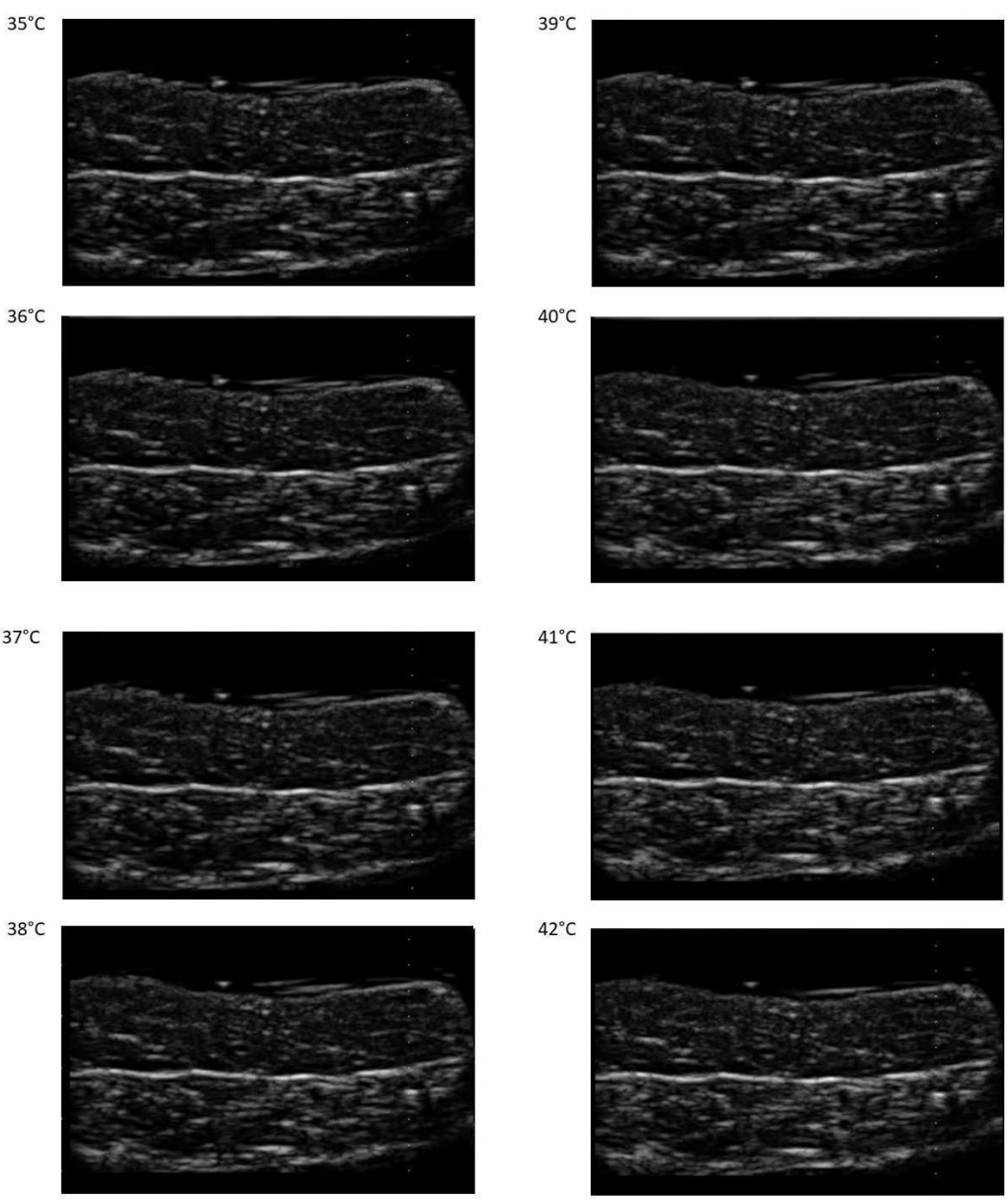


Figura 13 – ROI para análise da imagem completa. A) Imagem de tecido muscular de porco fresco com 274x457 pixels; B) Imagem de tecido adiposo de porco fresco com 224x456 pixels.

5 Resultados

Após processamento dos vídeos, oito imagens da amostra contendo majoritariamente tecido adiposo, ou seja, com essa região mais próxima ao transdutor, e outras oito imagens do tecido contendo majoritariamente músculo foram obtidas, como mostram as Figuras 14A e 14B. Nesta figura já se pode observar a diferença de contraste no brilho dos pixels ao se comparar imagens de um mesmo tecido submetidas ao aquecimento.

A



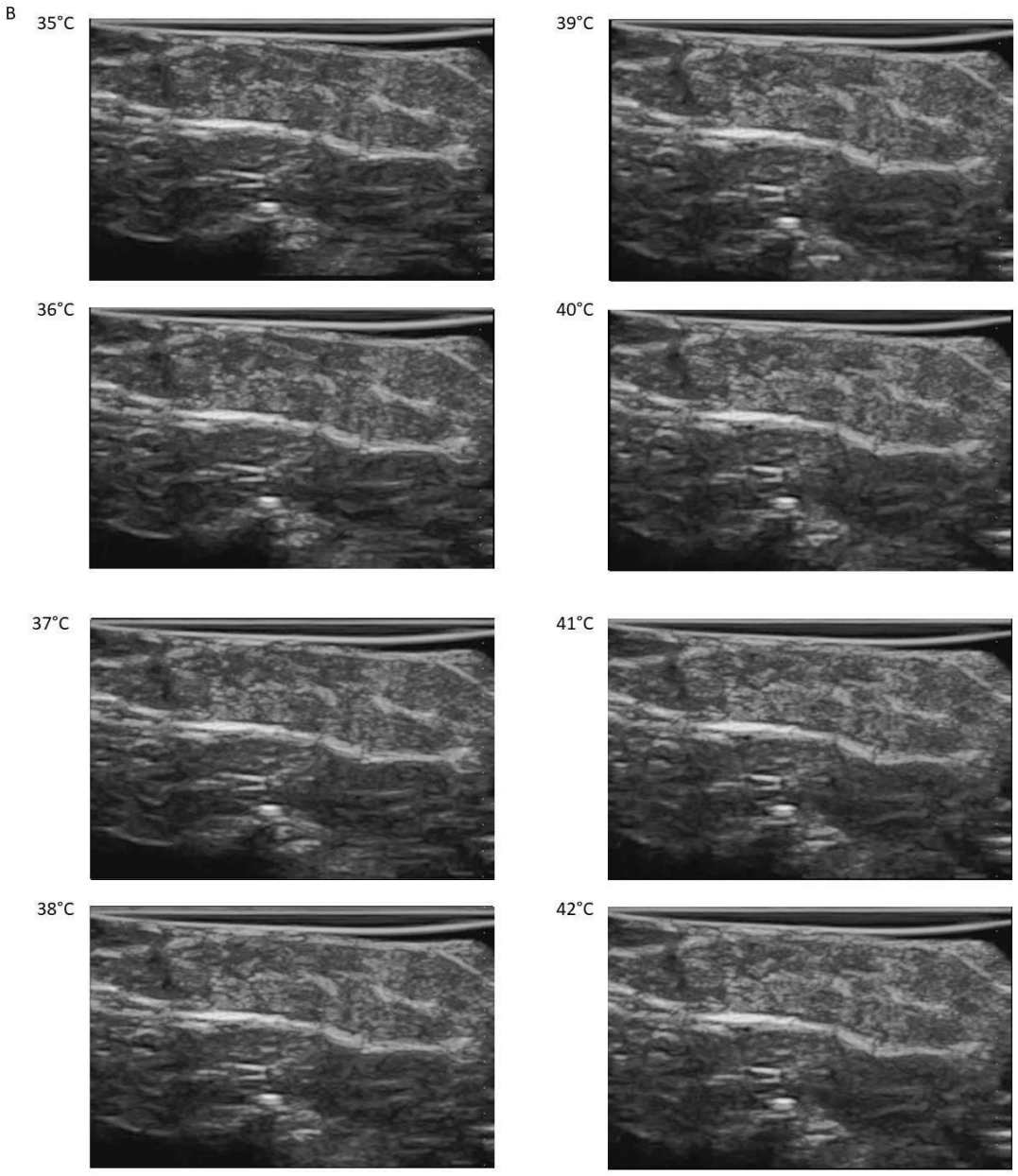
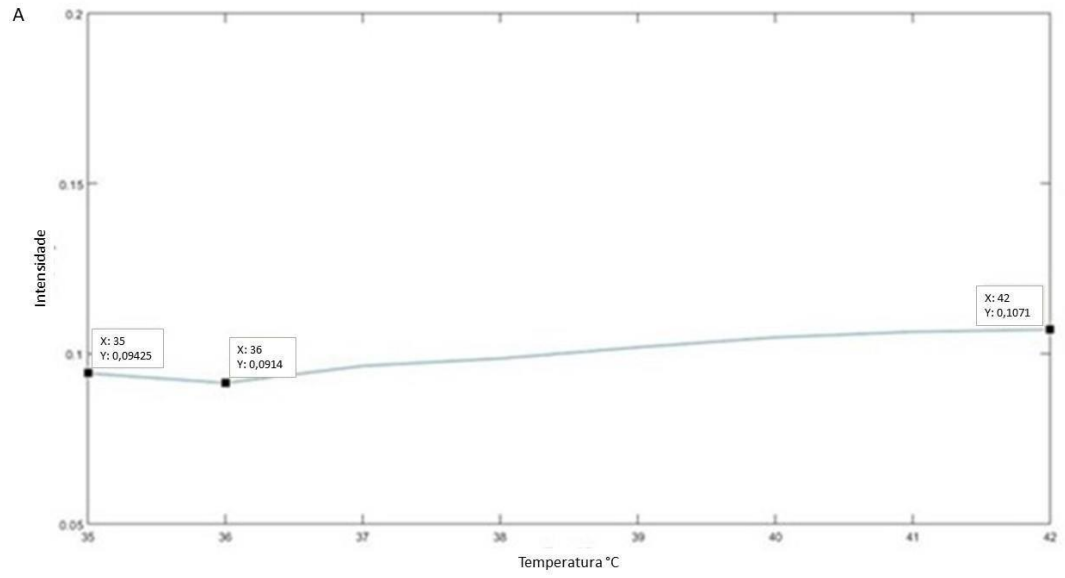


Figura 14 – Resultado da formação de imagem a partir dos vídeos fornecidos para o intervalo de temperatura 35°C a 42°C. A) Imagens de tecido adiposo de porco fresco; B) Imagens de tecido muscular de porco fresco.

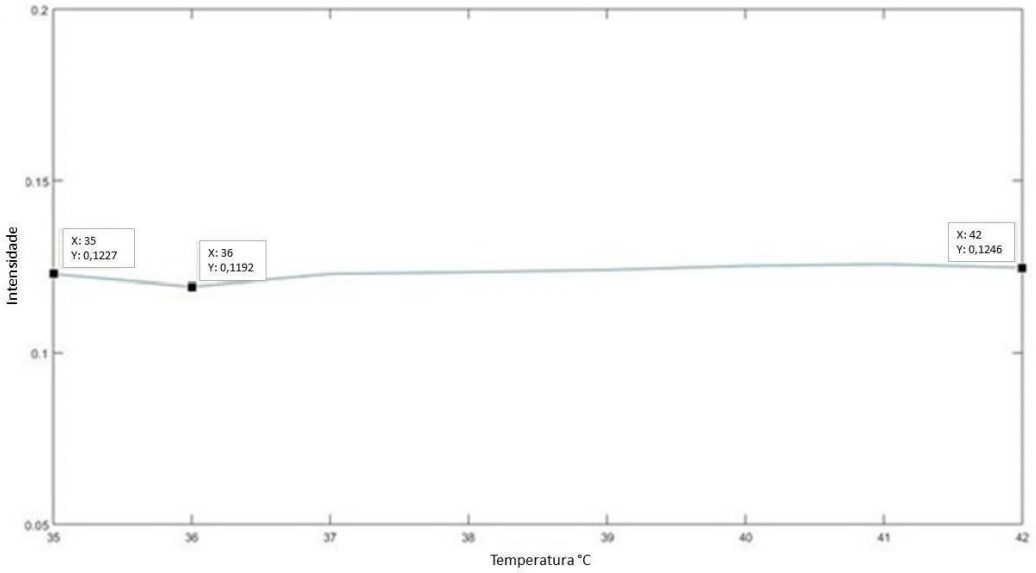
Para cada uma das cinco análises, gráficos de Intensidade *versus* Temperatura foram gerados, de acordo com o número de linhas e colunas contidas na ROI estudada, para ambos os tecidos.

Após o processo de cálculo do gráfico médio contendo a curva do coeficiente angular referente a mudança da intensidade de brilho ao longo das oito temperaturas às quais a amostra foi submetida, bem como de seus desvios padrão, foram destacados no gráfico os valores de intensidade de brilho obtidos nas temperaturas de 35 °C, 36 °C e 42 °C para que os resultados quantitativos dessa variação fossem melhor visualizados e extraídos para análise, já que a variação de intensidade apresentada entre as temperaturas de 35 °C e 36 °C ocorreu de forma diferente da encontrada no intervalo entre 36 °C e 42 °C.

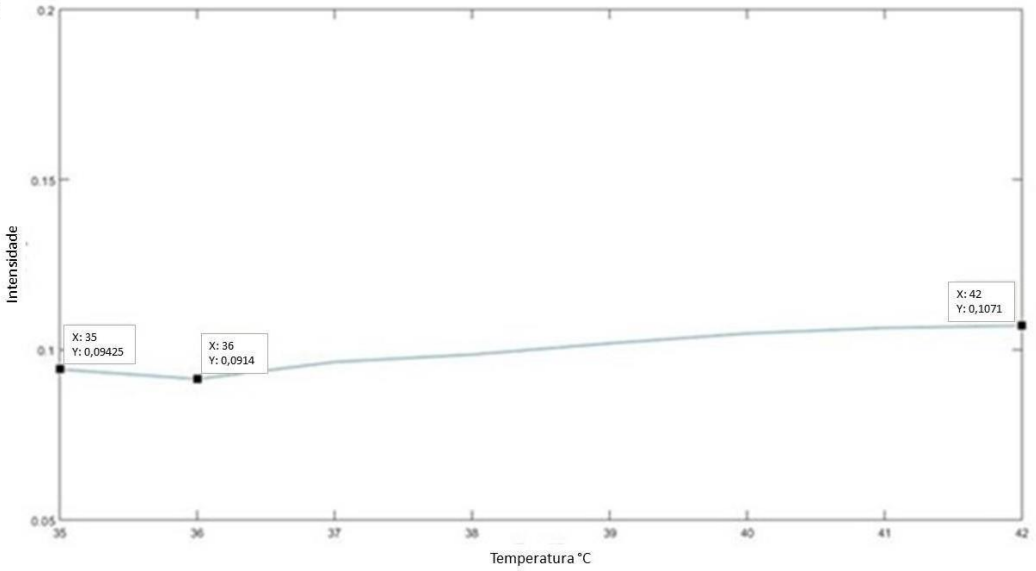
Os gráficos gerados para as maiores ROIs usadas como referência para os cortes das imagens estão nas Figuras 15 e 16, a seguir:



B


0.2
0.15
0.1
0.05
Intensidade
X: 35
Y: 0,1227
X: 36
Y: 0,1192
X: 42
Y: 0,1246
35
36
37
38
39
40
41
42
Temperatura °C

C


0.2
0.15
0.1
0.05
Intensidade
X: 35
Y: 0,09425
X: 36
Y: 0,0914
X: 42
Y: 0,1071
35
36
37
38
39
40
41
42
Temperatura °C

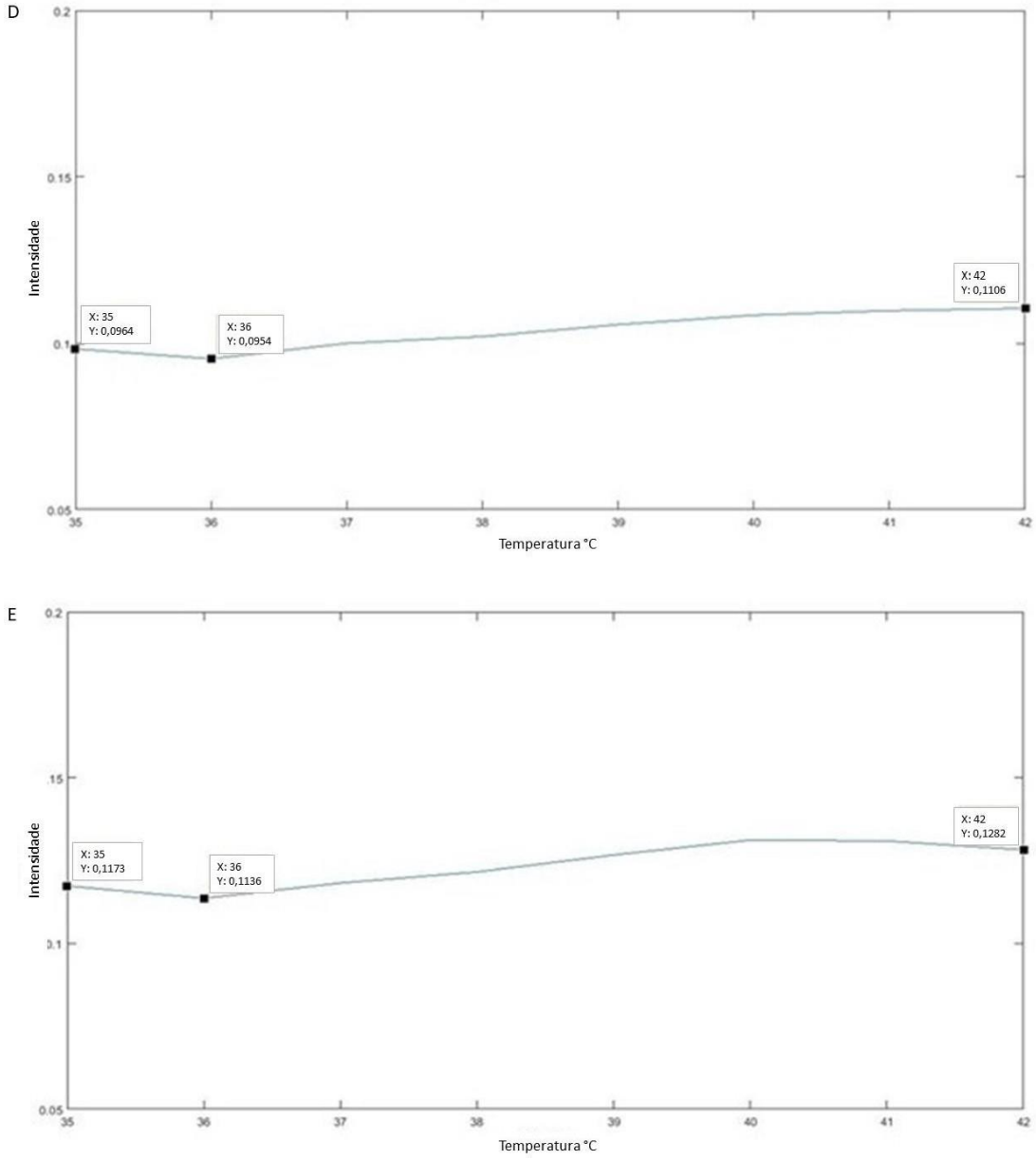
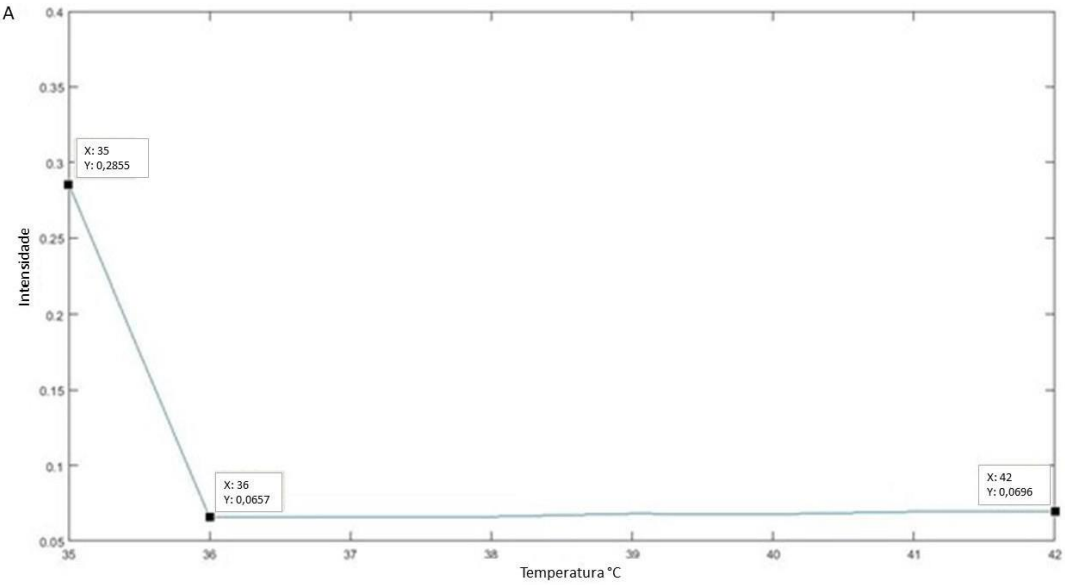
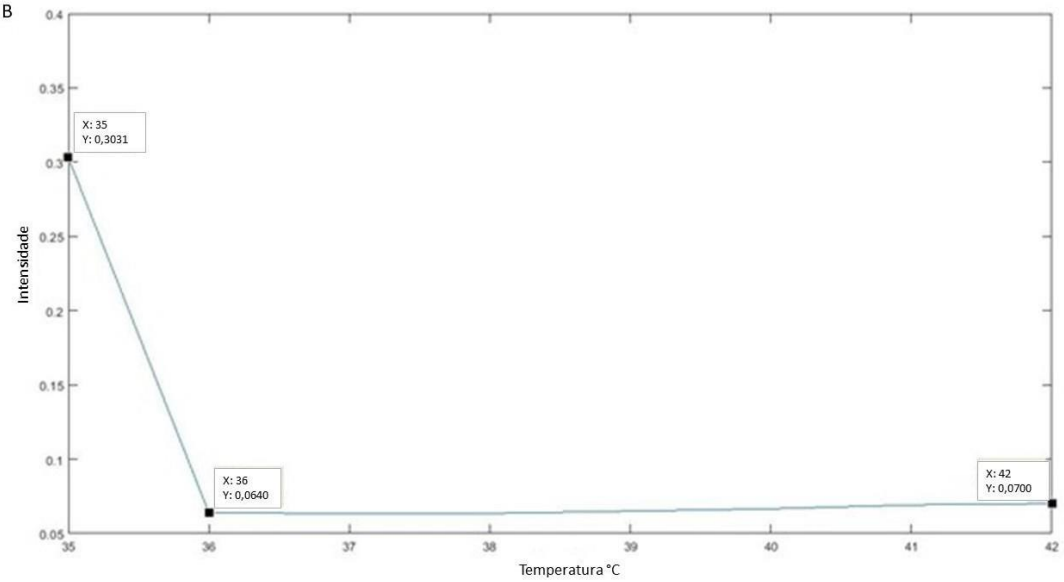


Figura 15– Gráficos Intensidade versus Temperatura para ROI 80x100 pixels de tecido adiposo de porco fresco. A) Média das linhas independentes; B) Linhas acumuladas uma a uma; C) Média das colunas independentes; D) Coluna acumulada; E) Análise linha acumulada com coluna.

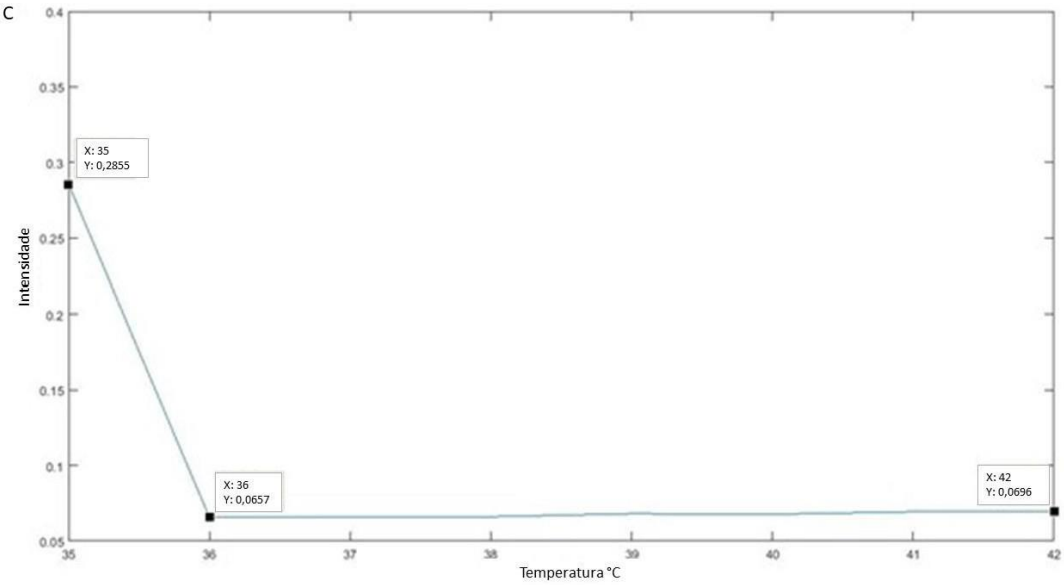
A


X: 35
Y: 0,2855
X: 36
Y: 0,0657
X: 42
Y: 0,0696
Intensidade
Temperatura °C

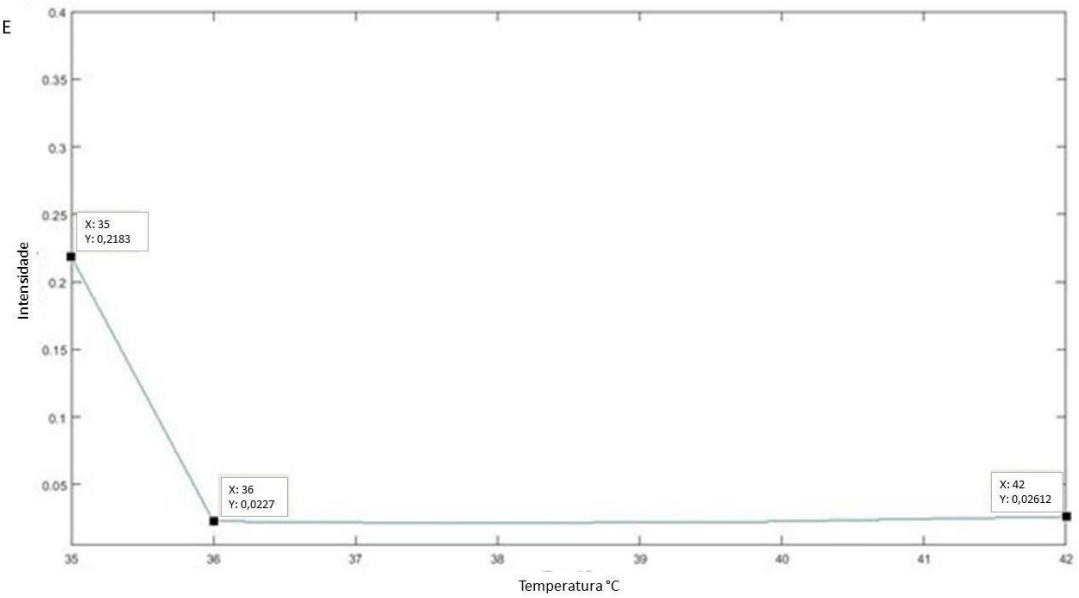
B


X: 35
Y: 0,3031
X: 36
Y: 0,0640
X: 42
Y: 0,0700
Intensidade
Temperatura °C

C


X: 35
Y: 0,2855
X: 36
Y: 0,0657
X: 42
Y: 0,0696
Intensidade
Temperatura °C

E


X: 35
Y: 0,2183
X: 36
Y: 0,0227
X: 42
Y: 0,02612
Intensidade
Temperatura °C

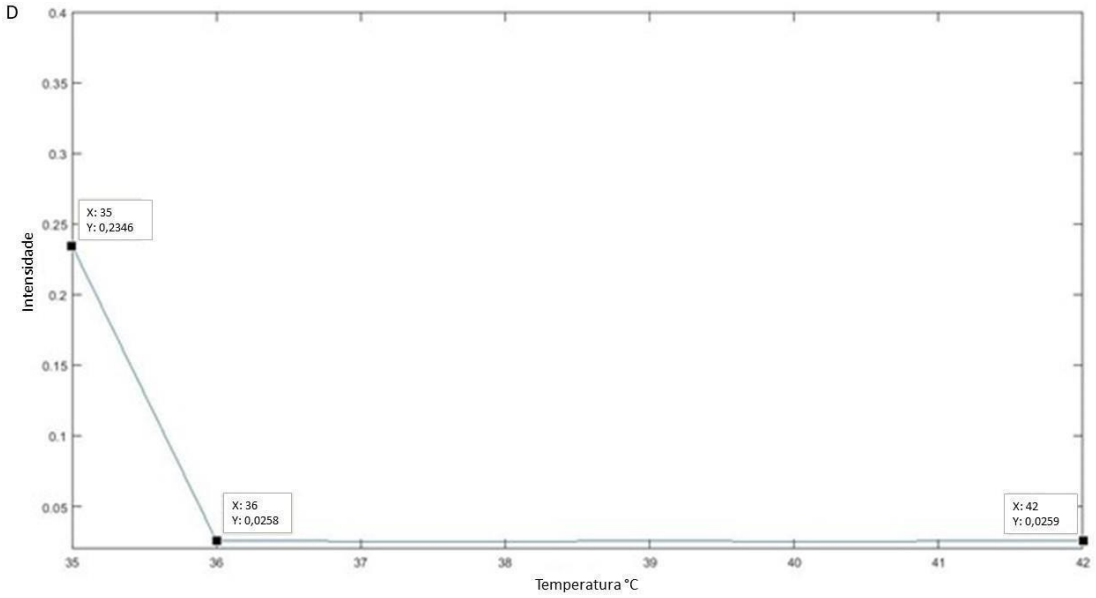


Figura 16 – Gráficos Intensidade versus Temperatura para ROI 96x100 pixels de tecido muscular de porco fresco. A) Análise linhas; B) Análise linhas acumuladas uma a uma; C) Análise colunas; D) Análise coluna acumulada uma a uma; E) Análise linha acumulada com coluna.

Os resultados dos gráficos foram extraídos e importados para tabelas para melhor visualização dos dados e para cálculo não só da variação quantitativa da intensidade da escala de cinzas como também o percentual de incremento ou decréscimo da curva de CBE que ocorreu durante o aquecimento.

Inicialmente estudou-se o comportamento das imagens das duas amostras inteiras, ou seja, ambas contendo tanto tecido muscular quanto tecido adiposo, a fim de verificar o comportamento das amostras como um todo. O resultado com o cálculo da variação de intensidade e o percentual de incremento destas análises (escala arbitrária) estão expostos na Tabela 2 a seguir:

Tabela 2 – Valor médio e desvio padrão das intensidades conforme as análises nas imagens completas das amostras de tecido adiposo e muscular de porco fresco.

TIPO DE TECIDO (ROI)		Linha Independente	Linha acumulada	Coluna Independente	Coluna acumulada	Linha e coluna acumuladas
TECIDO ADIPOSO (274x457)	DP	0,0256 (0,0011) *	0,0166 (0,0006)	0,0256 (0,0005)	0,0344 (0,0014)	0,0255 (0,0005)
	CV%	4,29	3,61	1,95	4,07	1,96
TECIDO MUSCULAR (224x456)	DP	0,0154 (0,0042)	0,0193 (0,0060)	0,0154 (0,0030)	0,0170 (0,0027)	0,0142 (0,0036)
	CV%	27,27	31,09	19,48	15,88	25,35

**DP – Desvio Padrão CV% - Coeficiente de Variação*

Então, deu-se início a investigação com as ROIs pré-estabelecidas e, ao encontrar a menor região que apresentou características mais próximas as regiões controle, novos cortes com valores próximos foram realizados e os resultados foram expostos da mesma forma da imagem completa e encontram-se nas Tabelas 3, para imagem de tecido adiposo e Tabela 4, para imagem de tecido muscular.

Tabela 3 – Valor médio e desvio padrão das intensidades conforme análises na região superior das imagens da amostra de tecido adiposo de porco fresco.

ROI		Linha Independente	Linha acumulada	Coluna Independente	Coluna acumulada	Linha e coluna acumuladas
CONTROLE		0,0256	0,0166	0,0256	0,0344	0,0255
(80x360)	DP	(0,0011) *	(0,0006)	(0,0005)	(0,0014)	(0,0005)
	CV%	4,29	3,61	1,95	4,07	1,96
80x200		0,0147	0,0115	0,0147	0,0147	0,0163
	DP	(0,0007)	(0,0006)	(0,0004)	(0,0004)	(0,0004)
	CV%	4,76	5,22	2,72	2,72	2,45
80x100		0,0157	0,0054	0,0157	0,0152	0,0176
	DP	(0,0007)	(0,0002)	(0,0006)	(0,0006)	(0,0007)
	CV%	4,46	3,70	3,82	3,95	3,98
80x90		0,0160	0,0055	0,0160	0,0151	0,0145
	DP	(0,0007)	(0,0003)	(0,0006)	(0,0006)	(0,0007)
	CV%	4,38	5,45	3,75	3,97	4,83
80x80		0,0186	0,0112	0,0186	0,0179	0,0098
	DP	(0,0008)	(0,0005)	(0,0008)	(0,0007)	(0,0007)
	CV%	4,30	4,46	4,30	3,91	7,14
75x75		0,0153	0,0098	0,0153	0,0139	0,0092
	DP	(0,0007)	(0,0005)	(0,0007)	(0,0006)	(0,0005)
	CV%	4,58	8,35	4,58	4,32	7,61
60x60		0,01	0,0092	0,01	0,0121	0,0084
	DP	(0,0005)	(0,0005)	(0,0005)	(0,0006)	(0,0005)
	CV%	5,00	5,44	5,00	4,96	5,95
50x50		0,0046	0,0048	0,0046	0,0121	0,0078
	DP	(0,0004)	(0,0004)	(0,0004)	(0,0008)	(0,0007)
	CV%	8,70	8,33	8,70	6,61	8,97

**DP – Desvio Padrão CV% - Coeficiente de Variação*

Tabela 4 – Valor médio e desvio padrão das intensidades conforme análises na região superior das imagens da amostra de tecido muscular de porco fresco.

ROI		Linha independente	Linha acumulada	Coluna independente	Coluna acumulada	Linha e coluna acumuladas
CONTROLE (96x461)	DP	-0,1995 (0,0073) *	-0,2196 (0,0080)	-0,1995 (0,0034)	-0,1976 (0,0033)	-0,2010 (0,0034)
	CV%	3,66	3,64	1,70	1,67	1,69
96x100	DP	-0,2159 (0,0079)	-0,2087 (0,0077)	-0,2069 (0,0077)	-0,2331 (0,0084)	-0,1945 (0,0070)
	CV%	3,66	3,69	3,72	3,60	3,60
90x90	DP	-0,2069 (0,0078)	-0,2084 (0,0078)	-0,2069 (0,0078)	-0,2186 (0,0083)	-0,1922 (0,0073)
	CV%	3,77	3,77	3,77	3,80	3,80
80x80	DP	-0,2069 (0,0078)	-0,2084 (0,0078)	-0,2069 (0,0076)	-0,2186 (0,0073)	-0,1922 (0,0077)
	CV%	3,77	3,74	3,67	3,34	4,01
75x75	DP	-0,1942 (0,0080)	-0,2084 (0,0086)	-0,1942 (0,0080)	-0,1910 (0,0079)	-0,1922 (0,0077)
	CV%	4,12	4.13	4,12	4,14	4,01
70x70	DP	-0,1918 (0,0083)	-0,2129 (0,0091)	-0,1918 (0,0083)	-0,1811 (0,0078)	-0,1999 (0,0082)
	CV%	4,33	4.27	4,33	4,31	4,10
65x65	DP	-0,1974 (0,0089)	-0,2155 (0,0095)	-0,1974 (0,0089)	-0,1807 (0,0081)	-0,1925 (0,0086)
	CV%	4,51	4,41	4,51	4,48	4,47
60x60	DP	-0,1993 (0,0094)	-0,1389 (0,0099)	-0,1993 (0,0094)	-0,1794 (0,0084)	-0,1920 (0,0089)
	CV%	4,72	7,13	4,72	4,68	4,64
50x50	DP	-0,1885 (0,0111)	-0,2082 (0,0118)	-0,1885 (0,0111)	-0,1720 (0,0098)	-0,1862 (0,0105)
	CV%	5,89	5,67	5,89	5,70	5,64

**DP – Desvio Padrão CV% - Coeficiente de Variação*

Após verificar as regiões mais próximas ao controle duas novas tabelas, contendo apenas os dados referentes os resultados das análises que envolvem o estudo do comportamento das colunas das imagens, foram criadas, por esses dados já incluírem a interferência da degradação de imagem que ocorre ao longo da profundidade.

Tabela 5 – Valor médio e desvio padrão das intensidades conforme análises na região superior das imagens da amostra de tecido adiposo de porco fresco para análises que envolvem estudo das colunas.

ROI		Coluna independente	Coluna acumulada	Linha e coluna acumuladas
CONTROLE		0,0256	0,0344	0,0255
(80x360)	DP	(0,0005)	(0,0014)	(0,0005)
	CV%	1,95	4,07	1,96
80x90		0,0160	0,0151	0,0145
	DP	(0,0006)	(0,0006)	(0,0007)
	CV%	3,75	3,97	4,83
80x80		0,0186	0,0179	0,0098
	DP	(0,0008)	(0,0007)	(0,0007)
	CV%	4,30	3,91	7,14
75x75		0,0153	0,0139	0,0092
	DP	(0,0007)	(0,0006)	(0,0005)
	CV%	4,58	4,32	7,61
60x60		0,01	0,0121	0,0084
	DP	(0,0005)	(0,0006)	(0,0005)
	CV%	5,00	4,96	5,95

**DP – Desvio Padrão CV% - Coeficiente de Variação*

Tabela 6 – Resultado quantitativos das análises realizadas na região superior das imagens da amostra de tecido muscular de porco fresco para análises que envolvem estudo das colunas.

ROI		Coluna Independente	Coluna acumulada	Linha e coluna acumuladas
CONTROLE (96x461)	DP	-0,1995 (0,0034)	-0,1976 (0,0033)	-0,2010 (0,0034)
	CV%	1,70	1,67	1,69
80x80		-0,2069	-0,2186	-0,1922
	DP	(0,0076)	(0,0073)	(0,0077)
	CV%	3,67	3,34	4,01
70x70		-0,1918	-0,1811	-0,1999
	DP	(0,0083)	(0,0078)	(0,0082)
	CV%	4,33	4,31	4,10
60x60		-0,1993	-0,1794	-0,1920
	DP	(0,0094)	(0,0084)	(0,0089)
	CV%	4,72	4,68	4,64
50x50		-0,1885	-0,1720	-0,1862
	DP	(0,0111)	(0,0098)	(0,0105)
	CV%	5,89	5,70	5,64

**DP – Desvio Padrão CV% - Coeficiente de Variação*

6 Discussão

A partir dos vídeos obtidos do banco de dados, realizou-se o processamento obtendo uma única imagem referente a cada temperatura a partir da média dos *frames* dos vídeos para cada amostra de tecido. Com isso conseguiu-se eliminar artefatos da imagem, uma vez que esse procedimento atua como um filtro passa baixas temporal (TEIXEIRA, 2013).

Ao se comparar inicialmente as imagens modo-B completas que foram geradas a partir da média, para olhos treinados, já é possível observar diferença na mudança de intensidade dos pixels que ocorre nas diferentes temperaturas, principalmente para as imagens cujas temperaturas diferem de 2 °C ou mais graus Celsius (Figura 14). Evidenciando as mudanças nas características do sinal retroespalhado geradas pela perturbação térmica observáveis nas imagens em modo-B, concordando com os trabalhos de Alvarenga e colaboradores em 2013 e Teixeira e colaboradores no trabalho publicado em 2014. Os achados em relação a diferença de brilho na imagem quando um tecido é submetido ao aquecimento, reforçam a necessidade de estudos para que o uso do ultrassom de imagem seja implementado como forma não invasiva de medição de temperatura.

Ao realizar as análises do comportamento dos pixels nas ROIs, tanto o controle quanto os cortes menores, verificou-se a presença do padrão como teoricamente esperado, em que houve um incremento da intensidade na escala de cinza durante o aquecimento em tecido adiposo de porco e um decréscimo da escala para tecido muscular, acompanhando o mesmo padrão de comportamento da curva CBE, de acordo com o descrito na literatura (STRAUBE, 1994; ARTHUR, 2003; TEIXEIRA, 2014).

A Tabela 2, que expõe o resultado das cinco análises realizadas nas imagens completas de tecido adiposo e tecido muscular, confirma o padrão descrito por Straube em 1994 de que o fator lipídico prevalece quando ambos dispersores estão presentes. Logo, nessas análises, encontrou-se um padrão de aumento na intensidade do nível de cinza dos pixels por um incremento da curva de CBE para ambos os tecidos, com comportamento discreto para o tecido muscular.

Analisando em mais detalhes o comportamento da mudança da escala de cinzas nos tecidos com diferentes espalhadores, os gráficos da Figura 14 foram gerados representando as análises em tecido adiposo, em que se pode observar que, inicialmente, houve uma queda no coeficiente angular de regressão entre a variação da escala de cinzas dos pixels e a temperatura para o primeiro grau de incremento de temperatura. A partir de então, a curva apresenta crescimento. Isto parece ocorrer, não só devido ao fato de que a equação que relaciona a dependência entre a temperatura e o coeficiente de retroespalhamento seja estável a partir de 36 °C para esse tipo de amostra (TROBAUGH, 2008), mas também porque, fisiologicamente, em organismos complexos o tecido adiposo é formado por diferentes tipos de ácidos graxos que têm elevado ponto de fusão. Logo, uma hipótese é que, ao se aquecer o tecido, a energia recebida seja responsável por alterar seu estado físico, fazendo com que a imagem perca intensidade e, após atingir 36 °C, ao entrar em equilíbrio, passa a aquecer uniformemente, mantendo a entalpia e, assim, a intensidade começa a se comportar como o esperado, ou seja, aumentando (SARI, 2002; YUAN, 2014; HEEREN,2018).

Ao se analisar a amostra de tecido muscular (Figura 16), pode-se observar um padrão de queda abrupta da intensidade no primeiro grau de aquecimento e, após esse momento, uma estabilidade na curva de intensidade da escala de cinza, mantendo discreta queda ao longo do restante do aquecimento. Esse comportamento pode se dever ao fato de que o tecido muscular é formado por grande quantidade de água, o que, além de fazer com que o aquecimento se dê de forma rápida, uma vez que a água apresenta uma atenuação consideravelmente menor em relação aos espalhadores aquosos presentes na amostra de tecido (Tabela 1), influencia o resultado fazendo com que a atenuação seja menor.

Nas Tabelas 3 e 4 que apresentam os resultados para análises quantitativas da diferença sofrida pela intensidade dos pixels nas ROIs selecionadas, observa-se uma variabilidade menor, quando as análises são realizadas ao longo das linhas na imagem, isso ocorre devido ao fato de que as imagens ultrassônicas degradam com a profundidade, gerando um padrão instável. As medidas que envolvem linhas e coluna evidenciaram esse mesmo padrão para ROIs menores em ambos os tecidos. Por esse motivo, uma tabela excluindo o comportamento dos pixels ao longo das linhas da

imagem foi elaborada com o objetivo de analisar melhor o que ocorre na escala de cinza nas ROIs de investigação para verificar qual seria a menor região que apresenta as mesmas características que a ROI controle.

Os resultados das Tabela 4 e 6, referente às análises de tecido adiposo, mostram que a ROI com tamanho 80x90 pixels é a que apresenta características mais próximas à região controle (80 x 360 pixels) com um coeficiente de variação três vezes menor que o apresentado no controle. Após esse achado, análises retirando uma linha e uma coluna também foram realizadas, de forma que as ROIs tivessem um número de colunas maior que o número de linhas ou que fossem quadradas para satisfazer as equações e não ter a interferência da degradação da imagem que ocorre durante a profundidade, como mencionado anteriormente. Entretanto foram se tornando distantes do controle, conforme se diminuía o tamanho da ROI.

Apesar da ROI encontrada (80 x 90 pixels) apresentar-se com tamanho bem próximo à região denominada controle (80x360 pixels), contendo o mesmo número de linhas, ainda assim representa uma área menor do que a que contém a maior parte de tecido adiposo nestas imagens.

Para os resultados das análises de tecido muscular expostos na Tabela 4 e 6, observa-se que a ROI 60 x 60 pixels foi a que apresentou resultados mais próximos à região controle, tanto quando comparados com os resultados que só incluem o estudo das colunas que inclui a interferência de degradação de imagem em linhas, quanto quando comparamos as cinco análises realizadas, que incluem os estudos envolvendo as linhas das imagens. Também foram realizados testes com tamanhos menores de ROI, retirando sempre uma linha e, em seguida, uma coluna, obedecendo os mesmos critérios dos cortes realizados nos testes para imagem de tecido adiposo. Porém as ROIs menores se mantiveram distantes do resultado encontrado em relação ao controle 96 x 461 pixels.

Nas duas tabelas (3 e 4) que apresentam as cinco análises completas, pode-se observar que os resultados quantitativos para as imagens linha por linha e coluna por coluna são os mesmos, apenas se diferenciando por seus desvios padrões. Isso ocorre porque o resultado exposto é uma média dos gráficos gerados, logo espera-se que a média da variação de intensidade da escala de cinzas de todas as linhas das imagens e a

média de todas as colunas sejam as mesmas, já que em ambas temos a representação da área estudada como um todo.

Esses achados sugerem que uma região menor que a parcela da imagem que contém toda área do tecido de interesse é capaz de apresentar as mesmas características, levando a crer que não seria necessário estudar a região como um todo para analisar suas características e mapear a temperatura, por exemplo, que é um dos principais interesses das pesquisas atuais.

Com os dados já descritos na literatura sobre o comportamento da escala de cinza (brilho da imagem) durante o aquecimento e a contribuição deste trabalho, pode- se sugerir o aprofundamento desses estudos para que possa haver a possibilidade de aplicabilidade desse conhecimento para delimitar uma área do organismo lesionada. Uma vez que o calor provocado pela cascata de reação inflamatória aumenta a temperatura local, devido à vasodilatação, em mais de 1 °C (DUCHESNE, 2013). O intervalo de temperatura corporal humana considerado normal pela OMS é entre 36 °C e 37 °C, e a variação de 2 °C seria suficiente para evidenciar aos olhos treinados diferença na intensidade da escala de cinza observada nas imagens de ultrassom modo- B pelo avaliador, em princípio, seria possível notar contrastes de intensidade entre uma área inflamada, com temperatura aumentada, e a área sadia.

Nesse mesmo contexto, visando delimitar uma área do organismo que está sendo submetida ao aquecimento durante tratamento e, considerando que a termoterapia é um recurso amplamente utilizado na fisioterapia, não só pelo uso de ultrassom terapêutico, como também radiofrequência, ondas curtas, infravermelho, entre outros recursos, para tratamento de diversos tipos de lesão agudas e crônicas de origem músculo esquelética ou desordem de tecido epitelial e adiposo, a possibilidade de uso de um ultrassom de imagem portátil nesses casos implicaria, não só a delimitação da região inflamada, como também um controle do aquecimento gerado por esses tratamentos de forma não invasiva, tornando as técnicas mais eficazes, seguras e aumentando sua indicação terapêutica, uma vez que, muitas vezes, a falta de um mapeamento e controle do aumento de temperatura durante a terapia gera insegurança quanto à eficácia desta e acaba por restringir o uso dessas técnicas pelos profissionais.

Tratamentos realizados para células cancerígenas através de hipertermia gerada

por ultrassom terapêutico também poderiam se beneficiar a partir associação de um ultrassom de imagem, uma vez que grande parte da dificuldade desse tratamento também é a monitorização da temperatura que usualmente só ocorre de forma invasiva (TROBAUGH, 2008). Para esse tipo de terapia, a mensuração da temperatura é fundamental, pois determina o tipo de tratamento, já que o aquecimento na faixa citotóxica de temperatura que é de 41 °C a 45 °C (PEREZ *et al.*, 1987 *apud* STRAUBE, 1994), sensibiliza as células tumorais para associação com quimio e radioterapia, enquanto temperaturas acima de 50 °C geram ablação celular (*American Cancer Society - ACS*). A utilização das imagens concomitante ao aquecimento faria com que houvesse a possibilidade de realizar o controle de forma não invasiva e baixo custo, a partir do processamento e análise da mudança de contraste nas imagens geradas, sem que seja necessário analisar a área completa do tecido tratado (ARTHUR, 2003). Evidenciando mais uma vez que o aprofundamento com novos estudos seria de fundamental importância na prática clínica.

7 Conclusão

Após as análises dos vídeos verificou-se que, para tecido adiposo de porco fresco, o incremento de temperatura levou ao aumento na intensidade dos pixels. No presente estudo, a intensidade dos pixels nessas amostras para região controle ocorreu em uma média de 0,025 (unidades arbitrárias), o que representa uma variação de 30,46% na intensidade da imagem, no intervalo de aquecimento de 36 °C a 42 °C, de acordo com a curva de CBE. As sub-regiões selecionadas se mostraram instáveis quando comparadas à região de referência, quando as regressões realizadas envolviam a análise em linhas, o que provavelmente é decorrente do fato de que a degradação da imagem acontece ao longo da profundidade. Já as análises que envolveram somente as informações das colunas mostraram que a região 80 x 90 pixels apresenta características mais próximas à referência 80x360 pixels, apresentando um incremento médio de 0,015 (unidades arbitrárias) relativos a uma variação de 20% na intensidade da imagem no intervalo de temperatura estudado. Sendo esta, a menor região selecionada onde pode-se observar mudança significativa na intensidade dos pixels para o estudo das amostras desse tecido.

Os vídeos de tecido muscular de porco fresco também seguiram o padrão esperado e apresentaram queda na intensidade dos pixels durante o aquecimento, de tal forma que a região controle apresentou uma queda média de 0,2 (unidades arbitrárias), o que representa 76,20% de variação da intensidade. Para essas imagens a ROI investigada de 60x60 pixels também foi a que apresentou características mais próximas ao controle 96x461 pixels, com uma queda média de 0,19 (unidades arbitrárias), referente a uma variação de 78,80% da intensidade. Fazendo com que essa região represente a menor área da imagem onde se pode encontrar as mesmas características da região que contém todo tecido muscular.

Faz-se necessário também, como próximos passos, um estudo de aprofundamento desses conhecimentos para que a parir daí verifique-se a viabilidade da implementação do ultrassom de imagem portátil durante tratamento de aquecimento tecidual como método não invasivo para determinar a distribuição de temperatura, associando a porcentagem de aumento de intensidade dos pixels com a temperatura

atingida pelo tecido. O que será de grande importância para monitorização do tratamento de tumores cancerígenos por hipertermia. Uma vez que o aquecimento tornar-se-ia "visível" pelo profissional, pode-se desenvolver um protocolo para que ocorra uniformemente, aumentando a eficácia do tratamento.

Uma vez que seja possível observar a variação de temperatura através das características de imagem de ultrassom, a implementação desse conceito teria grande importância para outras práticas clínicas, como no tratamento fisioterapêutico de lesões musculoesqueléticas em que o aquecimento por ultrassom é utilizado para reduzir inflamação e acelerar cicatrização. Uma vez que este tratamento atualmente não permite uma delimitação minimamente acurada da região aquecida e a intensidade real de aquecimento obter essas informações térmicas orientaria melhor o tratamento, tornando-o mais eficaz.

As pesquisas realizadas pelo grupo do LUS e da Universidade de Coimbra seguem em andamento. Atualmente novos *phantons* foram confeccionados para que a mudança de posicionamento dos pixels durante a possível dilatação do tecido proveniente do aquecimento seja estudada.

8 Referências bibliográficas

A Anand, Kaczkowski PJ. Noninvasive measurement of local thermal diffusivity using backscattered ultrasound and focused ultrasound heating. Ultrasound Med Biol. 2008;34(9):1449-64.

A. E. S. Pedrosa Ultrasound imaging by temperature induced changes on backscattered energy. 2016. 97f. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade de Coimbra, Coimbra, 2016.

A. Sari. Thermal reliability test of some fatty acids as PCMs used for solar thermal latent heat storage applications. Energy Conversion and Management, 2003; 44; 2277–2287

C. A. Teixeira et al. Feasibility of non-invasive temperature estimation by the assessment of the average gray-level content of B-mode images. Ultrassonics 2014, 54, p 1692-1702.

C. A. Teixeira et al. On the feasibility of ultrasound imaging enrichment by medium temperature changes. Ultrasonic Imaging 2018, pp1-18.

C. A. Teixeira, A Fontes, M Von Kruger, AV Alvarenga, WCA Pereira. Expressiveness of temperature-induced changes in backscattered energy in conventional B-mode images. Proc Meet Acoust. 2013;19(1):75006.

E. Duchesne, S. S. Dufresne, N. A. Dumont Impact of Inflammation and Anti-inflammatory Modalities on Skeletal Muscle Healing: From Fundamental Research to the Clinic. Phys Ther. 2017;97:807–817.

E.C.O. Guirro e R.R.J. Guirro. Fisioterapia Dermato Funcional – Fundamentos, recursos e patologias; Ed Manorle; 3 edição; 2002.

G.C. X. Peixoto et al. Bases Físicas da Formação da imagem ultrassonográfica. Veterinária Brasilica, 2010, v.4, n.1, pp.15-24.

H. Fauzi, H. S.C. Metselaar, T.M.I. Mahlia, M. Silakhori, H. Chyuan. OnThermal characteristic reliability of fattyacid binary mixtures as phase change materials (PCMs) for thermal energy storage applications. Applied Thermal Engineering, 2015; 80; 127e131.

J. C. Bamber. et al. Ultrassonic propagation through fixed and unfixed tissues. Ultrassonic in Med. & Biol.. 1979, Vol 5. p 159-165.

J. Heeren, L. Scheja Brown adipose tissue and lipid metabolism – Review. Curr Opin Lipidol 2018, 29:000–000

J. J. Lee, Formação e Processamento de Imagens de Ultrassom. 60f. Dissertação de mestrado; Universidade de São Paulo; São Paulo; 2010.

J. W. Trobaugh at all. A Simulation Model for Ultrasonic Temperature Imaging Using Change in Backscattered Energy. Ultrasound Med Biol. 2008; 34(2): 289–298

K. K. Shung, M. B. Smith, B Tsui. Principles of medical imaging. New York: Academic Press; 1992:90-99.

M. Xu and L. V. Wang. Photoacoustic imaging in biomedicine. Review of Scientific Instruments, 2006; 77; 041101.

P. Fish. Physics and instrumentation of diagnostic medical ultrasound. Wiley 1990.

P. N. T. Wells. Ultrasonics in medicine and biology. Physics in Medicine & Biology. 22(4); 629-669; 1977.

R. A Sigelmann. Analysis and measurement of ultrasound backscattering from an ensemble of scatterers excited by sine-wave bursts. J Acoust Soc Am. 1973;53:1351-55.

R. J. D. Simões, Thermo-responsive ultrasound imaging: modeling and preliminary results. 163f. Dissertação de Mestrado; Faculdade de Ciencias e Tecnologia; Universidade de Coimbra; Coimbra; 2014.

R. M. Arthur, WL Straube, JD Starman, EG Moros. Noninvasive temperature estimation based on the energy of backscattered ultrasound. Med Phys. 2003;30:1021-9.

R. Arthur, W. Straube, J. Trobaugh, E.Moros. Noninvasive estimation of hyperthermia temperatures with ultrasound. International Journal of Hyperthermia 2005;21:589–600.

R. Arthur, J. Trobaugh, W. Straube, E. Moros. Temperature dependence of backscattered ultrasonic energy in motion-compensated images. IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control 2005;52:1644–1652

Y. Yuana, N. Zhanga, W. Taob, X. Caoa, Y. Heb. Fatty acids as phase change materials: A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews; 2014; 29; 482–498

Arthur, R. M., Straube, W. L., Trobaugh, J. W., & Moros, E. G. (2005). Non- invasive estimation of hyperthermia temperatures with ultrasound. International Journal of Hyperthermia, 21(6), 589–600.

Teixeira, C. A., Ruano, A. E., Ruano, M. G., Pereira, W. C. A., & Negreira, C. (2006). Non-invasive temperature prediction of in vitro therapeutic ultrasound signals using neural networks. Medical & Biological Engineering & Computing, 44(1-2), 111–116.

Simon C, VanBaren P, Ebbini ES (1998) Two-dimensional temperature estimation using diagnostic ultrasound. IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control 45:1088–1099

Teixeira CA, Cortela G, Gomez H, Ruano MG, Ruano AE, Negreira C, Pereira WCA (2004) Temperature models of a homogeneous medium under therapeutic ultrasound. IFMBE News 69:52–56, URL: http://www.ifmbe-news.iee.org/ifmbenews/nov2004/nov04s.pdf

APÊNDICE A

Evaluation of the Gray Scale Intensity Variation of Ultrasonic Images from Porcine Muscle Tissue as a Function of Temperature

J. G. Rigueira[1], M. E. Pastrana-Chalco[1], C. Teixeira[2], M. A. von Krüger[1], W. C. A. Pereira [1]

[1]Department of Biomedical Engineering, COPPE Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

[2]Departament of Informatic Engineering, Faculty of Science and Technology, University of Coimbra, Coimbra, Portugal

Abstract — **Ultrasonography is one of the most widely used diagnostic imaging methods currently available because of its low cost and easy access. However, it does not present an image with detail level such as that observed with the magnetic resonance technique, for example. In view of this, a new ultrasound image processing modality that uses temperature variation as a form of disturbance of the medium to obtain a better contrast was proposed by Teixeira et al., 2018. It was observed that images acquired at different temperatures presented different contrast, which led us to believe that it would be possible to observe changes in the intensity of the ultrasonic signal with the heating of the medium. Thus, the present study aims to determine the smallest possible region in the image whose variation of the intensity of the grayscale pixels generates a perceptible contrast to the eyes of the observer. This difference was the result of the variation of the pixel intensity that generated the images of biological tissue during the temperature increase.**

Keywords — **Backscattered energy, Temperature changes, Ultrasound imaging.**

I. INTRODUCTION

Ultrasonography is the most commonly used diagnostic imaging method in clinical practice today. In addition to having low cost and easy access, it is capable of producing images in real time and is considered a safe method because it is not invasive and does not use ionizing radiation [1].

However, despite technological advances in recent years, when compared to other imaging methods, ultrasound does not present the same level of detail, making the diagnosis depend on the experience of the professional who evaluates the image [2].

In view of this lack of detail, in 2004, Teixeira et al proposed a new modality of ultrasound image processing based on the theory of backscattered energy (CBE) changes and previous work where it uses temperature variation as a form of perturbation of the medium.

Previous studies have found that media containing a greater number of lipid scatterers cause an increase in the CBE curve when heated, while media with predominantly aqueous scatterers cause a decline in the curve when subjected to the same conditions [3]. This led to the idea that

it would be possible to observe changes in the intensity of the ultrasonic signal when heating the medium, generating a different image from the conventional one, with better contrast. Thus, a new method of image formation has been proposed, called "CBE-based ultrasound imaging", represented by CBEUS, where it is possible for the observer to notice the variation of the contrast in the image (grayscale) during the warm-up.

The present study aims to analyze the change in the pixel intensity of ultrasonic images of fresh porcine muscle tissue along a heating cycle to determine the smallest area (pixel group) where a significant variation of the pixel intensity can be observed, which represents a gray level change already perceptible to the eyes of the observer.

8.1.2 II. METHODOLOGY

The present study uses a database containing B-mode ultrasound videos of porcine muscle tissue, submitted to heating with a temperature variation between 35 ° and 42 ° C, as well as a set of functions in MATLAB (MathWorks®) for processing of the videos, both developed by the authors Where analyzes were carried out on each video to verify and quantify the intensity change that occurs in each pixel of a certain region of interest (ROI).

II.I Image Acquisition

Samples of fresh porcine muscle tissue were subjected to a temperature variation of 35 to 42 °C, where the tissue was placed in a PVC chamber, according to the setup in Fig. 1, in which the sample was in a bath with temperature controlled, and a copper tube allowed the heating of the water so that a temperature variation between 35 ° and 42 °C was produced. An ultrasound scanner (SonixMDP, Ultrasonix, 10 British Columbia, Canada) with a linear transducer (L14-5 / 38, Ultrasonix, British Columbia, Canada) was coupled to this system to generate B-mode images with a 128-element transducer at a central frequency of 10MHz and an 8-bit resolution [4].

For the acquisition of the videos the CamStudio program was used (CamStudio.org), where, after the capture, each pixel was codified and converted into a grayscale to allow the processing.

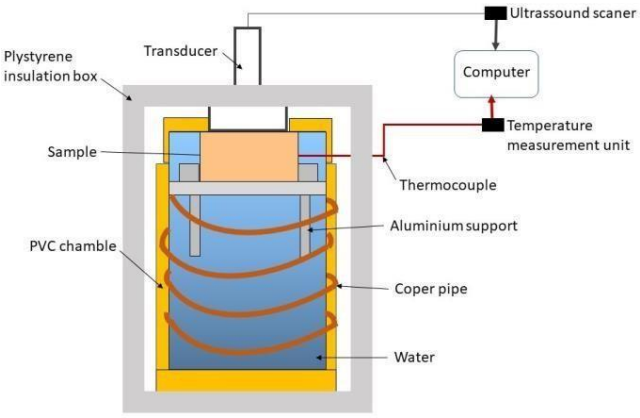


Fig. 1. Experimental setup for obtaining B-mode ultrasound images [3].

Initially the porcine muscle tissue was maintained at a temperature of 35 °C for 30 minutes for thermal equilibrium. At the end of that time a video of 5-second duration at 30 frames per second was obtained. Thereafter an increment of 1 °C of temperature was performed and was now maintained for 5 minutes, at the end of that time a video with the same characteristics as the first one was obtained. This process was repeated until the final temperature of 42 °C was reached.

II.II Image processing.

The obtained videos were, then, processed. Initially the average B-frame (frame) ultrasound was calculated, so that we had only one image to represent each temperature. In the second moment the study of the intensity variation of each pixel related to the temperature increment was started. Four regions of interest (ROI) were chosen for the study: 40x40, 60x60, 80x80 and 100x100 pixels, as well as a control region 103x357 pixels. The positioning parameters of the slices are fixed from the largest region (100x100) to ensure that in the other ROIs the same pixels are analyzed, as shown in Fig. 2.

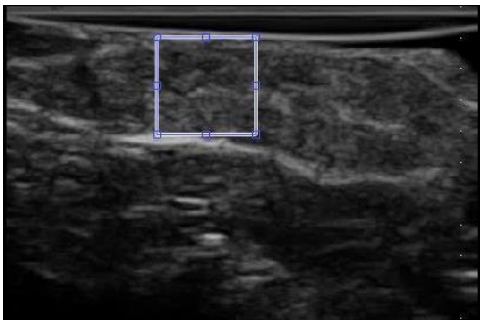


Fig. 2. Location of selection of ROI in porcine muscle tissue.

The regions of interest were converted into a matrix and from that point linear regressions were performed following the ROIs evolution with temperature to analyze the change of the pixel intensity that occurred.

Linear regressions were performed, as shown in Fig. 3, as follows:

- Analysis of each line;
- Line analysis, starting from the first line and accumulating 1 in 1 lines;
- Analysis of each column;
- Analysis by column, starting from the first column and accumulating 1 in 1 columns;
- Analysis accumulating columns and rows.

For each of these analyzes the mean and standard deviation were calculated.

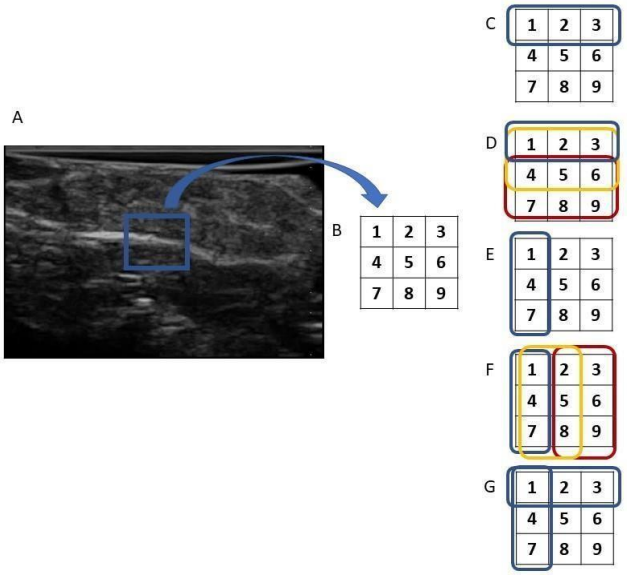


Fig. 3.ROI processing. A) Selection of ROI. B) Transformation of ROI into a matrix. C) Individual analysis of lines. D) Analysis from the first row accumulating the lines one by one. E) Individual column analysis. F) Analysis from the first column accumulating one by one. G) Analysis from the first accumulated rows and columns.

III. RESULTS

In total eight B-mode videos of porcine muscular tissue were analyzed where the frames already presented significant differences to the naked eye, when images with different temperatures were compared, as we can see in Fig. 4.

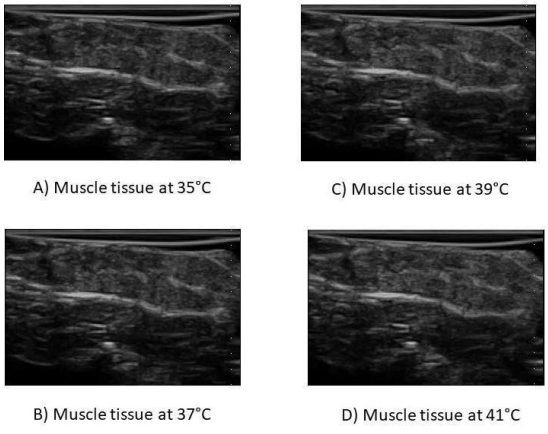


Fig.4. Ultrasound images of porcine muscle tissue corresponding to the temperature frames A) 35 B) 37 C) 39 and D) 41°C

Thus, the images obtained at temperatures 35, 37, 39 and 41 °C were selected for the study. For each of these temperatures the analyzes described in item II.II were performed.

All analyzes of ROIs showed a variation of the intensity of the grayscale pixels as expected, that is, a decrease of the CBE curve due to the temperature increase, maintaining the same reduction pattern as we can see in Fig. 5.

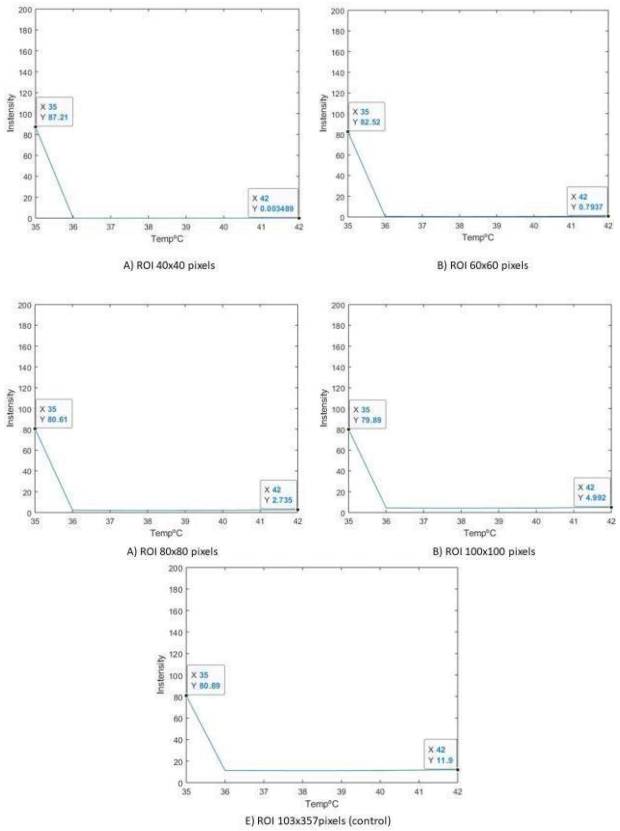


Fig. 5. Result of the regression accumulating rows and columns of ROIs A) 40x40, B) 60x60, C) 80x80, D) 100x100 and control region E) 103x357(control).

The averages of the individual analyses of accumulated lines, accumulated columns and accumulated lines and columns of the subregions were calculated and were far from the results found in the control region.

TABLE I

GRAY-LEVEL VARIATION FOR THE DIFFERENT ROIs

OI	**Accumulated Lines**		**Accumulated Coluns**		**Accumulated Lines and Coluns**	
0x40	86.08	30.44)*	66.77	23.61)*	81.32	28.75)*
0x60	76.92	27.27)*	63.87	22.95)*	75.62	26.83)*

0x80	72.66	25.80)*	58.18	20.88)*	71.91	25.61)*
00x100	70.07	24.82)*	55.25	19.81)*	53.16	19.02)*
ontrol 103x357	69.94	24.86)*	60.77	20.76)*	64.17	22.87)*

*standard deviation

The total average variation of the gray scale for each subregion was also calculated and its result is contained in Table 2, which shows that in this form of analysis the ROI 80x80 has a total average that is close to the results found in the region control.

TABLE 2

AVERAGE ANALYSIS

Region of Interest				
0x40	0x60	0x80	00x100	C ONTROL 103x357
-	-	-	-	-
86.78 (26.0)*	81.87 (24.6)*	75.66 (22.8)*	77.65 (23.1)*	74.37 (22.2)*

*standard deviation

IV. DISCUSSION

According to the graphs in Fig. 5 the increment of 1°C may be enough mathematically for a significant variation of the gray scale of the control image, but when we observe the image (Fig. 4), this change is only sensitive to eyes of the observer when comparing images with at least 2°C of difference and when larger this difference greater the contrast found between the images.

When analyzing the images of the control region that involves only lines, we can observe an unstable pattern, probably because the ultrasound image undergoes degradation along the depth, which is

not evident in the other ROIs. When we observed the average of all the analyzes performed, we were able to observe the same pattern for all the subregions, since with the analysis of columns we do not have interference of the degradation of the image.

In Table 1 we can observe that the result of the analysis involving lines of 100x100pixels region and the control are very similar, justified by the fact that they have very close line numbers. In this same table when we observe the results of the analyzes that involve the study of the behavior of the columns, we find proximity between the results obtained in the control region and in the ROI 80x80 pixels.

V. CONCLUSION

After the analyses of the videos, it was verified that, for fresh pork muscle tissue, the temperature increase led to a decrease in the intensity of the grayscale of the pixels, as observed by Teixeira et al., 2014. In the present study, the variation intensity of the pixels for the control region occurred at an average of -74.37 points.

Overall, the selected ROIs can be considered unstable when compared to the control region when the regressions performed involved the 5 analyses individually, mainly in relation to the lines, which is probably due to the fact that image degradation occurs along the depth. However, when we observed the average pattern of the 5 analyzes obtained, we found that the ROI of size 80x80 pixels had characteristics close to the reference (103x357) pixels. This being the smallest region of our selection where we can observe a significant change in the intensity of the pixels for this study. As next steps, it is intended to make a fine adjustment in the size of the region of interest, taking as reference the region 80x80pixels.

REFERENCES

[1] G.C. X. Peixoto et al. “Bases Físicas da Formação da imagem ultrassonográfica” *Veterinária Brasilica*, 2010, v.4, n.1, pp.15-24.

[2] P. Fish Physics and instrumentation of diagnostic medical ultrasound. Wiley 1990.

[3] Teixeira et al. “Feasibility of non-invasive temperature estimation by the assessment of the average gray-level content of B-mode images.” *Ultrassonics* 2014, 54, p 1692-1702.

[4] C. A. Teixeira et al. On the feasibility of ultrasound imaging enrichment by medium temperature changes. Ultrasonic Imaging. Accept for publication: 22/08/2018.

[5] R. J. D. Simões, “Thermo-responsive ultrasound imaging: modeling and preliminary results.” 163f. Master's Dissertation - Faculty of Sciences and Technology, University of Coimbra, Coimbra. 2014.

[6] A. E. A. Pedrosa. “Ultrasound imaging by temperature induced changes on backscattered energy.” 97f . Master's Dissertation - Faculty of Sciences and Technology, University of Coimbra, Coimbra. 2016.

[7] J. J. Lee, “Formação e Processamento de Imagens de Ultrassom” 60f. Master's Dissertation - Universidade de São Paulo, São Paulo. 2010.

Acknowledgments to the financing agencies CNPq (311.650 / 2017-1), CAPES and FAPERJ E-26 / 203.041 / 2015.