



COPPE/UFRJ

ESTUDO DAS PROPRIEDADES ULTRASSÔNICAS DE ALTA FREQUÊNCIA EM
CARCINOMAS CUTÂNEOS EX VIVO

Lorena Itatí Petrella

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

Orientadores: João Carlos Machado
Wagner Coelho de Albuquerque
Pereira

Rio de Janeiro

Junho de 2010

ESTUDO DAS PROPRIEDADES ULTRASSÔNICAS DE ALTA FREQUÊNCIA EM
CARCINOMAS CUTÂNEOS EX VIVO

Lorena Itatí Petrella

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

Examinada por:

Prof. João Carlos Machado, Ph.D.

Prof. Alexandre Visintainer Pino, D.Sc.

Prof. Eduardo Tavares Costa, Ph.D.

Prof^a. Marcia Ramos e Silva, MD; Ph.D.

Prof^a. Eliane Pedra Dias, MD; Ph.D.

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL

JUNHO DE 2010

Petrella, Lorena Itatí

Estudo das Propriedades Ultrassônicas de Alta Freqüência em Carcinomas Cutâneos Ex Vivo / Lorena Itatí Petrella. – Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2010

XII, 102 p.: il.; 29,7 cm.

Orientadores: João Carlos Machado

Wagner Coelho de Albuquerque Pereira

Tese (doutorado) – UFRJ/ COPPE/ Programa de Engenharia Biomédica, 2010.

Referências Bibliográficas: p. 81-88.

1. Biomicroscopía Ultrassônica, 2. Carcinoma, 3. Pele. I. Machado, João Carlos *et al.* II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, Programa de Engenharia Biomédica. III. Título.

DEDICATÓRIA

Aos meus queridos sobrinhos Lucas, Lourdes e Victoria por toda a alegria e o amor que eles representam em minha vida, e pela enorme saudade que sentimos ao longo destes anos.

AGRADECIMENTOS

É difícil poder agradecer em uma página a todas aquelas pessoas que foram importantes para mim ao longo destes anos de doutorado, já que são muitos os momentos vividos, e todos eles ficaram guardados na memória. Porém, não posso deixar de mencionar algumas pessoas que estiveram sempre presentes.

Em primeiro lugar, queria agradecer a meus orientadores Wagner e João. O curso de doutorado não fica limitado a um crescimento intelectual, o qual é só uma parte de todo o aprendizado ao longo deste período, mas envolve um grande crescimento pessoal. Foram muitos momentos vividos, tanto de felicidade como de dúvidas, mas agora que cheguei ao final desta etapa, agradeço pelo crescimento que de uma ou outra forma me proporcionaram ao longo destes anos.

Em segundo lugar, queria agradecer aos médicos que fizeram possível a realização do meu trabalho, os doutores Heliomar, Carlos, Paulo e Carolina. A disposição para colaborar, a orientação e as possibilidades que me outorgaram desde o início ao fim da parte experimental da tese, foi FUNDAMENTAL. Muito obrigada!

Em terceiro lugar, queria agradecer a todos os meus colegas e amigos do PEB, e especialmente a meus amigos do LUS. Quantos momentos bons, que continuam proporcionando alegria só de ser lembrados! E também, quanta ajuda recebida de vocês ante as necessidades do doutorado ou da vida. Não posso deixar de mencionar as minhas grandes amigas, ou melhor... às minhas irmãs do Brasil, que realmente foram como uma segunda família para mim: Adriane, Kelly, Isabela, Mônica e Viviane, é muito bom ter conhecido vocês!

Finalmente, e sem palavras que cheguem perto de poder expressar a importância que eles têm para mim, queria agradecer à minha família. Mesmo a quilômetros de distância sempre estiveram do meu lado; não concordando plenamente com as minhas escolhas sempre me apoiaram; sem conhecer totalmente as dificuldades vividas durante estes anos, sempre me aconselharam com as palavras certas; sem estar juntos sempre compartilhamos os momentos de alegria. Só posso agradecer eternamente a DEUS pela minha AMADA FAMÍLIA!

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

ESTUDO DAS PROPRIEDADES ULTRASSÔNICAS DE ALTA FREQUÊNCIA EM
CARCINOMAS CUTÂNEOS EX VIVO

Lorena Itatí Petrella

Junho/2010

Orientadores: João Carlos Machado

Wagner Coelho de Albuquerque Pereira

Programa: Engenharia Biomédica

No presente trabalho foi conduzido um estudo das propriedades ultrassônicas de alta-frequência para avaliação de carcinomas cutâneos *ex vivo*. Primeiro, foram geradas imagens dos tecidos por biomicroscopia ultrassônica, e observadas as mudanças nos níveis de ecogenicidade. Posteriormente, a partir da coleta de sinais de radiofrequência retroespalhados pelos tecidos, foram obtidos parâmetros quantitativos, tanto acústicos (velocidade de propagação, atenuação e retroespalhamento) como estatísticos (parâmetros de distribuições de densidade de probabilidade). As aquisições foram realizadas utilizando um sistema operando em 45 MHz. As amostras de tecido foram obtidas de pacientes voluntários, e corresponderam a diversos tipos de carcinomas cutâneos (37 amostras) assim como a tecido sadio (4 amostras). Alguns aspectos característicos foram observados em cada tipo de tecido, tanto pela análise de imagens, como de parâmetros quantitativos. Uma reduzida ecogenicidade, valores menores de velocidade e características mais pré-Rayleigh dos tecidos foram algumas tendências associadas aos tumores. Porém, alguns aspectos metodológicos, assim como a quantidade limitada de amostras de tecido, fazem necessário o desenvolvimento de futuras pesquisas nesta área, a fim de validar o potencial da técnica utilizada na caracterização de carcinomas cutâneos, para futuras aplicações *in vivo* (não invasivas).

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

STUDY OF THE HIGH-FREQUENCY ULTRASONIC PROPERTIES IN
CUTANEOUS CARCINOMAS EX VIVO

Lorena Itatí Petrella

June/2010

Advisor: João Carlos Machado

Wagner Coelho de Albuquerque Pereira

Department: Biomedical Engineering

A study of high-frequency acoustic properties was conducted in the present work, for *ex vivo* cutaneous carcinomas evaluation. Firstly, tissue images were generated by ultrasound biomicroscopy and the variations on the echogenicity levels were observed. Subsequently, quantitative parameters were computed from radio frequency signals collected from the tissues, even acoustical (sound speed, wave attenuation or backscatter) as statistical (probability density function parameters). The acquisitions were made using a system operating at 45 MHz. The tissue samples were obtained from volunteer patients, and correspond to different cutaneous carcinoma types (37 samples), as well as to healthy skin (4 samples). Some characteristic aspects were observed for the different tissue types, even by image observation as by the quantitative parameters. Reduced echogenicity, lower speed values and more pre-Rayleigh tissue characteristics were some tendencies associated with tumors. However, some methodological aspects, as well as the reduced number of tissue samples, make necessary future researches in this area, attempting to validate the technique potential in the characterization of cutaneous carcinomas, for future *in vivo* applications (noninvasive).

SUMÁRIO

I. Introdução	1
II. Fundamentos Teóricos	5
1. Anatomia Cutânea	5
1.1 Características da epiderme	5
1.2 Características da derme	7
1.3 Características da hipoderme	9
2. Histologia de carcinomas cutâneos	9
2.1 Carcinoma basocelular (CBC)	10
2.2 Carcinoma espinocelular (CEC)	13
2.3 Doença de Bowen (DB)	15
3. Características das imagens obtidas por BMU	16
4. Estudo de parâmetros acústicos	18
5. Estudo de parâmetros estatísticos	20
III. Revisão Bibliográfica	25
1. Técnicas de diagnóstico por imagens em dermatologia	25
2. Aplicações da BMU em dermatologia	31
2.1 Estudo de dimensões e ecogenicidade	32
2.2 Cálculo de parâmetros acústicos	34
2.3 Cálculo de parâmetros estatísticos	34
2.4 Estudo das propriedades mecânicas	35
IV. Materiais e Métodos	37
1. Amostras de tecido biológico	37
1.1 Seleção de pacientes voluntários	37
1.2 Coleta de amostras de tecido cutâneo	37
1.3 Manuseio das amostras de tecido	38
2. Estudo anatomopatológico	39
3. Sistema de biomicroscopia ultrassônica	39
4. Estudo qualitativo das imagens	43
5. Parâmetros acústicos	44
5.1 Programa para aquisição de sinais	44

5.2 Programa para cálculo de parâmetros acústicos	47
6. Parâmetros estatísticos	50
6.1 Programa para aquisição de sinais	50
6.2 Programa para cálculo de parâmetros estatísticos	52
V. Resultados	55
1. Imagens de BMU	55
2. Parâmetros quantitativos	63
2.1 Parâmetros acústicos	63
2.2 Parâmetros estatísticos	71
VI. Discussão	76
VII. Conclusão	80
Referências Bibliográficas	81
Anexo I	89
Anexo II	93

LISTA DE SÍMBOLOS

a	Rádio de abertura do transdutor
a_{GG}	Parâmetro de amplitude da distribuição gamma generalizada
AM	Sinais de RF provenientes da interface tecido/safira
AR	Sinais de RF provenientes da interface solução salina/safira
a_w	Parâmetro de amplitude da PDF de Weibull
BM	Sinais de RF retroespalhados pelo tecido
BMU	Biomicroscopia ultrassônica
b_w	Parâmetro de forma da PDF de Weibull
BW	Largura de banda
c	Velocidade do ultrassom no meio
c_a	Velocidade do ultrassom na água
CA	Ceratose actínica
CBC	Carcinoma basocelular
CEC	Carcinoma espinocelular
c_{GG}	Parâmetro de forma da distribuição gamma generalizada
CT	Com tumor
d	Distância
D	Profundidade da janela
DB	Doença de Bowen
d_f	Distância focal do transdutor de US
DOF	Profundidade do campo
DP	Derme profunda
D_s	Curva de correção da difração
DS	Derme superficial
d_T	Diâmetro da área ativa do transdutor de US
f	Frequência
f_c	Frequência central
F_s	Frequência de amostragem
GG	Distribuição Gamma Generalizada
I	CBC infiltrativo

IAC	Coeficiente de atenuação integrado
IBC	Coeficiente de retroespalhamento integrado
I_I	Intensidade incidente
I_R	Intensidade recebida
I_T	Intensidade transmitida
k	Número de onda
ML	Método de máxima verossemelhança
m_N	Parâmetro de forma da distribuição de Nakagami
MO	Microscopia óptica
N1	CBC nodular, com pequenas massas tumorais
N2	CBC nodular, com grandes massas tumorais
N3	CBC nodular, apresentando ulceração
número-f	Razão entre d_f e d_T
PDF	Função de distribuição de probabilidade
R	Amplitude das envoltórias dos sinais de RF
R_{ax}	Resolução axial
RF	Radiofrequência
R_{lat}	Resolução lateral
ROI	Região de interesse
R_q	Coeficiente de reflexão
S	CBC Superficial
SM	Sinais de RF retroespalhados na interface solução salina/PVC
SNR	Relação sinal/ruído
SQ	Sinais de RF retroespalhados na interface tecido/safira
SR	Sinais de RF retroespalhados na interface solução salina/safira
ST	Sem tumor
t	Tempo
TF	Transformada de Fourier
US	Ultrassom
V	Volume
v_m	Velocidade do US na membrana de PVC
V_{ref}	Amplitude do sinal de referência

V_S	Amplitude do sinal retroespalhado
\overline{W}	Potência média retroespalhada
x	Espessura
x_m	Espessura da membrana de PVC
Z_G	Equivalente a R^2
α	Coefficiente de atenuação
α_0	Coefficiente de atenuação para 1 MHz
α_{50}	Coefficiente de atenuação para 50 MHz
β	Coefficiente de retroespalhamento
η	Relação exponencial entre α e f
η_α	Coefficiente angular de α versus f
η_β	Relação exponencial entre β e f
θ	Ângulo de abertura do feixe de US
κ	Módulo elástico
λ	Comprimento de onda
ρ	Densidade
σ	Fator de correção
ν_{GG}	Parâmetro de forma da distribuição gamma generalizada
ω_0	Frequência angular fundamental
Ω	Ângulo sólido
Ω_N	Parâmetro de amplitude da distribuição de Nakagami

Capítulo I: Introdução

O método padrão utilizado no diagnóstico de doenças envolvendo alterações histológicas é a microscopia óptica (MO), a qual permite determinar de forma acurada as características patológicas que afetam o tecido, mediante a observação de estruturas a níveis celulares e sub-celulares. O procedimento de diagnóstico por MO consiste na excisão de uma amostra de tecido biológico (biópsia), a preparação da mesma (ver Capítulo III), e finalmente sua observação mediante um microscópio óptico. Embora não exista até o presente, métodos de diagnóstico que atinjam a precisão obtida por MO, a necessidade de extração de uma amostra de tecido do paciente pode ser muitas vezes inconveniente, e em alguns casos impraticável.

Por este e outros motivos, diversas técnicas de diagnóstico por imagens para aplicações *in vivo* têm recebido uma crescente atenção nas últimas décadas, e estão sendo aplicadas em diferentes áreas da medicina. Os princípios utilizados por estas técnicas são diversos (ver Capítulo III), outorgando variadas características nas imagens (como resolução atingida, orientação do plano de imagem gerado, profundidade do tecido visualizado, capacidade de definição de bordas, etc.), que se adaptam às necessidades específicas de cada aplicação.

O emprego de ondas ultrassônicas para geração de imagens com fins diagnósticos é prática comum em varias áreas da medicina. Imagens ecográficas, utilizando faixas de frequências entre 2-14 MHz, são amplamente usadas em ginecologia, cardiologia, gastroenterologia, endocrinologia, entre outras áreas. A obtenção de imagens por ultrassom (US) envolve um método relativamente simples e de baixo custo, se comparado a outras técnicas de imagiologia médica, permitindo obter resultados de forma quase imediata, sem causar alterações permanentes no processo fisiológico em estudo.

Mais recentemente surgiu o uso de US de alta frequência, conhecido como biomicroscopia ultrassônica (BMU) (FOSTER *et al.*, 2000). Esta técnica segue o mesmo princípio da ecografia convencional para a geração de imagens, diferenciando-se em que a faixa de frequências das ondas acústicas utilizadas é consideravelmente maior, na ordem de 20-60 MHz para a maior parte das aplicações clínicas (podendo atingir 200 MHz em aplicações experimentais). O trabalho nesta faixa de frequências permite obter imagens com resoluções de poucas dezenas de micrômetros, o que possibilita a identificação de estruturas não visíveis em ecografia convencional,

melhorando assim a capacidade de diagnóstico. Porém, esta técnica apresenta uma limitação; as ondas acústicas propagando-se num meio biológico experimentam uma atenuação progressivamente maior em função da frequência e com isto, a penetração que as ondas podem atingir fica limitada a poucos milímetros. Existe, por tanto, uma situação de compromisso entre resolução e penetração (FOSTER *et al.*, 2000).

Assim, as aplicações da BMU na área médica ficam restritas à visualização de estruturas superficiais, sejam de órgãos externos (globo ocular, pele ou articulações), ou endoluminais (vasos sanguíneos, paredes de dutos do sistema gástrico, respiratório e geniturinário), (KONDABOLU *et al.*, 2004; MACHADO *et al.*, 2002; OKAMOTO *et al.*, 2002; PAVLIN e FOSTER 1995; SOLDAN *et al.*, 2004; TÖYRÄS *et al.*, 2002; SENOH *et al.*, 1999). Já na área biológica, são conduzidos estudos que avaliam características relacionadas a processos de desenvolvimento embrionário, ou de evolução de tumores; para estas aplicações são utilizados pequenos animais como ratos, camundongos ou pequenos peixes (FOSTER *et al.*, 2003; WIRTZFELD *et al.*, 2005).

Na área da dermatologia, a aplicação de técnicas não invasivas no estudo de alterações cutâneas é favorecida, por ser a pele um órgão exposto. Em particular, a BMU é amplamente utilizada em clínica dermatológica, outorgando informação relevante na avaliação de estruturas cutâneas (CELEBI *et al.*, 2007; LEBERTRE *et al.*, 2002; MIYASAKA *et al.*, 2005; PETRELLA *et al.*, 2008; RALLAN e HARLAND 2004; SCHMID-WENDTNER e BURGDORF 2005; SCHOU *et al.*, 2004; STANLEY *et al.*, 2007; WALLER e MAIBACH 2005). Alguns aspectos que tornaram esta técnica compatível para sua utilização nesta área são: o fácil acoplamento entre a pele e o transdutor de US; a obtenção de imagens com resoluções suficientes para a identificação de uma grande parte das estruturas presentes na pele, tanto normais como patológicas; e a obtenção de imagens com profundidades adequadas para a visualização de epiderme, derme e parte da hipoderme, na maioria dos casos.

Porém, ainda existem algumas limitações no uso da BMU em clínica dermatológica, sendo a dificuldade para caracterizar malignidade de tumores uma das mais relevantes. A fim de superar este e outros limites, diversas pesquisas são desenvolvidas neste contexto. Algumas delas se orientam ao cálculo de parâmetros acústicos, mecânicos ou estatísticos, obtidos a partir dos sinais de US retroespalhados pelo tecido (trabalhando com sistemas de BMU adaptados para adquirir sinais de radiofrequência - RF). Estes parâmetros procuram auxiliar no processo diagnóstico,

proporcionando informação quantitativa que não pode ser evidenciada a partir da mera avaliação qualitativa das imagens.

O tipo de câncer cutâneo com maior incidência corresponde ao carcinoma cutâneo, o qual é originado pela proliferação atípica de células queratinocíticas presentes na pele (WEEDON *et al.*, 2006). Diversas pesquisas foram orientadas ao estudo qualitativo de imagens de carcinomas cutâneos obtidas por BMU (PETRELLA *et al.*, 2010; UHARA *et al.*, 2007), enquanto em outras, o interesse se focalizou na medição das dimensões destes tumores (ALLAN *et al.*, 2002; GOLDGEIRER *et al.*, 2003; MOGENSEN *et al.*, 2009; MOORE e ALLAN 2003). Porém, não foram encontrados na literatura estudos orientados ao cálculo de parâmetros quantitativos a partir dos sinais ultrassônicos de RF retroespalhados por tecido cutâneo carcinomatoso.

Alguns aspectos relevantes da BMU são: por se tratar de uma técnica não invasiva, não ocasiona desconforto no paciente (como dor, necessidade de cuidados pós-cirúrgicos, riscos de infecção, entre outros); por sua vez, o tempo necessário para obtenção do diagnóstico pode ser reduzido a alguns minutos, dando maior eficiência ao funcionamento dos centros de saúde (considerando-se a alta incidência deste tipo de tumor); além disso, quando um tumor é submetido a tratamento, a BMU pode possibilitar o seguimento de sua evolução, sem interferir no procedimento. Por estes motivos, a adequação da técnica de BMU no estudo de carcinomas cutâneos, pode proporcionar importantes benefícios, e se utilizada junto a outras técnicas de diagnóstico pode proporcionar uma avaliação mais completa deste tipo de lesões.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o potencial do US de alta frequência na caracterização de carcinomas cutâneos, visando futuras aplicações diagnósticas. Para isto, utilizaram-se biópsias de tecido cutâneo humano *ex vivo*, apresentando diversos tipos de carcinoma: carcinoma basocelular (CBC), carcinoma espinocelular (CEC) e doença de Bowen (DB). Os objetivos específicos do presente trabalho foram:

- Avaliar a partir da observação qualitativa das imagens obtidas por BMU, a capacidade da técnica para evidenciar os diversos componentes anatômicos relativos ao tumor (massas tumorais, estroma, infiltrado inflamatório, etc.).
- Avaliar mediante parâmetros acústicos, computados a partir dos sinais de RF retroespalhados pelo tecido, a capacidade de detectar mudanças na propagação das ondas acústicas ocasionadas pela presença de carcinoma.

- Avaliar mediante parâmetros estatísticos, computados a partir dos sinais de RF retroespalhados pelo tecido, mudanças nos espalhadores presentes no tecido devido à presença de carcinoma.
- Mediante os resultados obtidos, tanto para tecido carcinomatoso como para tecido sem tumor, observar os parâmetros que podem proporcionar melhores resultados no processo de caracterização de carcinomas cutâneos.

Capítulo II: Fundamentos Teóricos

No presente capítulo são apresentados os aspectos histológicos do tecido cutâneo, e dos diversos tipos de carcinomas cutâneos. Posteriormente, são dadas as bases teóricas dos diferentes métodos de análise a serem aplicadas no estudo destes carcinomas, incluindo: estudo qualitativo das imagens de BMU, cálculo de parâmetros acústicos, e cálculo de parâmetros estatísticos.

1. Anatomia cutânea.

A pele é o órgão humano que possui maior extensão e o de maior massa, cobrindo quase a totalidade da superfície corporal. Suas principais funções são:

- atuar como barreira para proteger o corpo de agressões externas
- auxiliar no regulamento da temperatura corporal
- participar em funções sensoriais
- participar em processos metabólicos e imunológicos.

A pele é formada por três camadas principais que são *epiderme* (camada mais externa), *derme* (camada central), e *hipoderme* (camada mais profunda). As características estruturais destas camadas podem experimentar importantes variações para diferentes regiões do corpo, a fim de se adaptarem a funções locais específicas.

1.1. Características da epiderme.

A *epiderme* é a camada mais externa da pele, sendo formada principalmente por células, especificamente queratinócitos e células dendríticas, com presença moderada de anexos cutâneos. Sua espessura pode variar entre 0,04-1,5 mm, dependendo do indivíduo e da localização no corpo.

- Queratinócitos: estas células apresentam abundante citoplasma e grandes quantidades de pontes intercelulares (desmossomas), organizando-se em camadas paralelas à superfície, mencionadas a seguir (Figura II.1.a).

- Células basais: apresentam núcleos ovais e alongados, e se dispõem como colunas formando uma camada unicelular (camada basal) que divide a epiderme da derme. Estas células são as responsáveis pela atividade mitótica na epiderme.
 - Células espinhosas: possuem formas poligonais formando uma camada de 5-10 células de espessura, evoluindo para um aspecto mais aplainado à medida que se aproximam da superfície. No citoplasma destas células encontram-se os precursores da queratina.
 - Células granulosas: podem apresentar formas de diamantes ou aplainadas, e constituem uma camada com 1-10 células de espessura. Estas células são responsáveis pela produção de queratina, existindo em seus citoplasmas grandes quantidades de grânulos cerato-hialinos.
 - Camada córnea: composta por células anucleadas como consequência da ceratinização. Esta camada forma uma barreira que impede a penetração de água proveniente do meio externo.
- Células dendríticas.
 - Melanócitos: apresentam núcleo pequeno e estão imersas entre as células basais. Sua função é produzir melanina, a qual é transferida aos queratinócitos por meio de processos dendríticos.
 - Células de Langerhans: apresentam núcleo pregado e estão presentes na epiderme superior. Sua função é defender a pele tanto de agentes externos (radiação, bactérias, entre outros) como de agentes internos (células cancerígenas, radicais livres).
 - Células indeterminadas: estão presentes na parte inferior da epiderme, e podem ser as precursoras dos melanócitos ou das células de Langerhans.
- Anexos cutâneos.
 - Terminações nervosas sensitivas: dispõem-se por cima da camada basal em forma irregular e em quantidades escassas.
 - Condutos glandulares: são provenientes de glândulas écrinas, apócrinas e sebáceas localizadas na derme, e que atravessam a epiderme até atingir a superfície.
 - Pêlos: são provenientes de folículos pilosos intradérmicos, que atravessam a epiderme até atingir a superfície.

A união entre epiderme e derme está formada por numerosas pregas denominadas papilas dérmicas, que se incrustam na epiderme formando crestas (Figura II.1.a). Existe uma região subepidérmica com menos de 1 μm de espessura, composta por mucopolissacarídeos e fibras reticulares.

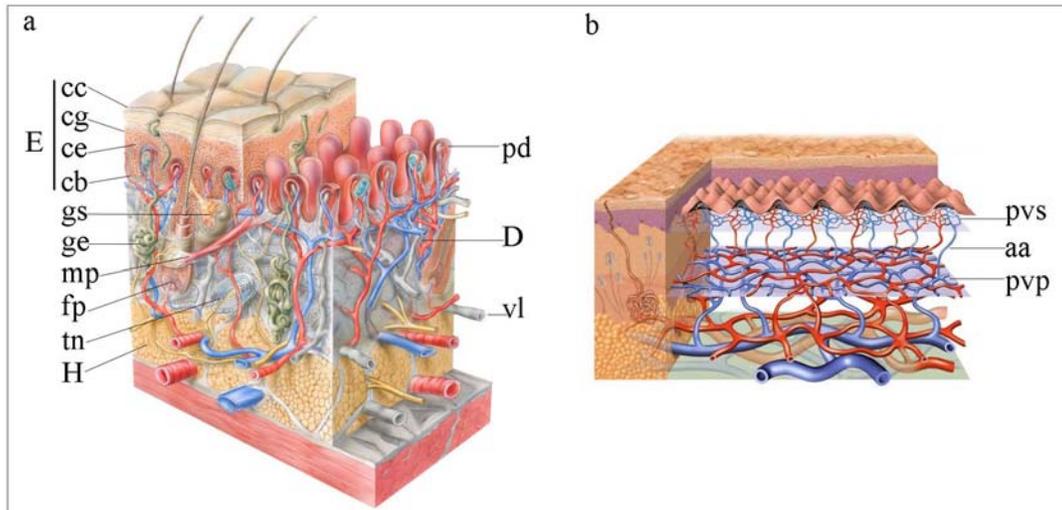


Figura II.1 – Estrutura de: a) as camadas da pele; b) o leito vascular cutâneo. (E: epiderme; D: derme; H: hipoderme; cc: camada córnea; cg: células granulosas; ce: células espinhosas; cb: células basais; gs: glândula sebácea; ge: glândula écrina; mp: músculo eretor do pelo; fp: folículo piloso; tn: terminação nervosa; pd: papilas dérmicas; vl: vaso linfático; pvs: plexo vascular superficial; aa: arteríolas ascendentes; pvp: plexo vascular profundo); (Disponível em: <http://www.scf-online.com>. Acesso em 07/11/08).

1.2. Características da derme.

A *derme* é composta principalmente por tecido conectivo (fibras), contendo uma quantidade considerável de anexos cutâneos e de células relacionadas a processos imunológicos. Sua espessura pode variar entre 0,3-3,0 mm, dependendo do indivíduo e de sua localização no corpo. A parte mais superficial da derme é denominada derme papilar, enquanto a parte mais profunda se denomina derme reticular.

- Tecido conectivo
 - Fibras colágenas: representam o componente mais abundante do tecido conetivo e possuem formas alongadas, com diâmetros que variam entre 2-15 μm . Na região subepidérmica (derme papilar) as fibras são de menor tamanho e estão orientadas perpendicularmente à superfície, sem apresentar entrelaçamentos

- entre si. Já na derme média e profunda, as fibras são maiores e se agrupam em bandos dispostos paralelamente à superfície, entrelaçados uns com outros.
- Fibras reticulares: são fibras colágenas de menor tamanho com diâmetros que variam entre 0,2-1 μm . Formam uma rede na derme papilar, sendo as primeiras a se regenerarem nos processos de cicatrização.
 - Fibras elásticas: são delgadas, apresentando diâmetros que variam entre 1-3 μm , e se encontram entrelaçadas com as fibras de colágeno. Na derme papilar são menores e se orientam quase perpendicularmente à superfície; já nas regiões mais profundas seus tamanhos aumentam, e estão orientadas paralelamente à superfície.
 - Substância fundamental: é um material amorfo presente em quantidades escassas que preenche os espaços interfibrilares. Em condições normais é composto por mucopolisacarídeos ácidos não sulfatados, que se unem a cadeias polipeptídicas.
 - Fibroblastos: são células encarregadas da síntese e absorção das fibras de colágeno e das fibras elásticas.
- Anexos cutâneos (Figura II.1.a).
 - Folículos pilosos: as camadas que compõem estes folículos, desde o centro à parte mais externa são a papila pilosa (mantém o crescimento do pelo), a matriz do pelo, a bainha radicular interna (cutícula do pelo) e a bainha radicular externa (extensão da epiderme).
 - Glândulas: os três tipos de glândulas presentes na pele são écrinas, sebáceas e apócrinas. As glândulas *écrinas* são encarregadas de produzir o suor e estão em toda a pele (exceto nas regiões modificadas sem anexos cutâneos); possuem um glomérulo na derme e um ducto que atravessa derme e epiderme. As glândulas *sebáceas* estão associadas a folículos pilosos e se encontram em quase toda a pele (menos na palma das mãos e planta dos pés); a parte secretora está localizada dentro da derme e os condutos desembocam em folículos pilo-sebáceos. As glândulas *apócrinas* são odoríferas, e se localizam em algumas regiões corporais específicas; a porção secretora está localizada na hipoderme, e o conduto atravessa tanto derme como epiderme.
 - Fibras nervosas: são encontradas fibras nervosas sensitivas e motoras. As fibras *sensitivas* podem apresentar terminações nervosas ramificadas (livres), ou terminações especializadas (corpúsculos) em regiões específicas do corpo. As

fibras *autônomas* possuem terminações ramificadas que enervam vasos, músculo involuntário e glândulas.

- Vasos sanguíneos: originam-se em plexos vasculares localizados na união da derme com a hipoderme, de onde surgem as arteríolas ascendentes (Figura II.1.b). Destas arteríolas, algumas se interconectam na derme papilar formando plexos, enquanto outras se ramificam dando origem a capilares.
 - Vasos linfáticos: possuem uma porção capilar localizada na derme papilar, uma porção pós-capilar localizada na derme profunda, e uma porção profunda situada na união da derme com a hipoderme.
 - Músculos: são encontradas fibras musculares lisas e fibras musculares estriadas. O músculo *liso* ou involuntário está associado aos folículos pilosos como eretor do pêlo, ou em algumas regiões específicas (como genitais e aréola). O músculo *estriado* ou voluntário está localizado na derme profunda de rosto e pescoço.
- Mastócitos: são células grandes, mononucleadas, cuja função é participar em processos de resposta imune.

1.3. Características da hipoderme.

A *hipoderme* é constituída por células adiposas, nas quais o citoplasma é quase completamente ocupado por gordura. Este tecido abriga vasos sanguíneos, vasos linfáticos e glândulas sudoríparas, sendo que as espessuras variam muito em função da região do corpo e das características do indivíduo (Figura II.1.a).

As funções da hipoderme são as de amortecimento mecânico, de isolamento térmico e de fonte de reserva energética.

2. Histologia de carcinomas cutâneos.

Os carcinomas cutâneos originam-se a partir da proliferação anômala de queratinócitos presentes na epiderme ou em anexos cutâneos (WEEDON *et al.*, 2006). O principal fator etiológico é a exposição à radiação solar, existindo outras causas como a evolução maligna de lesões benignas pré-existentes (como ceratose actínica, queimaduras, úlceras, etc.), a exposição à radiação ionizante, o uso de tabaco, a administração prolongada de arsênico inorgânico, a infecção com vírus do papiloma

humano (HPV), compostos químicos industriais (como cloreto de vinilo), e a exposição à gasolina ou vapor de gasolina.

Os carcinomas cutâneos apresentam um alto grau de incidência, abrangendo 90% dos tumores malignos da pele. O grau de agressividade é comumente baixo, com uma taxa de mortalidade inferior a 0,1%; porém, quando os tumores não são tratados por um longo período de tempo, o crescimento dos mesmos pode atingir camadas profundas da derme e ocasionar metástase em outros órgãos.

Suas aparências clínicas variam muito dependendo do tipo de carcinoma e do estado de evolução. Os carcinomas podem manifestar-se como uma única lesão, apresentar várias lesões simultâneas, ou surgir várias lesões ao longo do tempo. Além disso, mais de um tipo de carcinoma cutâneo pode estar presente simultaneamente, ou também pode existir uma evolução de um tipo para outro.

Histopatologicamente, os queratinócitos atípicos apresentam núcleos largos com hiper cromasia, disceratose e mitose em qualquer uma das camadas da epiderme. Dependendo do tipo de células cutâneas afetadas, podem ser classificados em três grupos principais: *carcinoma de células basais* ou *basocelular*, *carcinoma de células espinhosas* ou *espinocelular* e *doença de Bowen*, que é um carcinoma de células espinhosas intra-epidérmico (*in situ*).

2.1. Carcinoma basocelular (CBC).

O CBC se manifesta quase exclusivamente em regiões da pele onde existe exposição solar. É caracterizado pela presença de lóbulos, colunas, bandas ou cordas de células basaloídes com escasso citoplasma; por uma característica disposição paliçada dos núcleos das células mais externas; pela presença de estroma laxo de mucina envolta; e pela existência frequente de infiltrado inflamatório associado ao tumor. Existem diferentes subtipos de CBC, classificados segundo suas características clínicas e histopatológicas (WEEDON *et al.*, 2006):

- CBC *superficial*: clinicamente se apresenta como manchas eritematosas, (frequentemente múltiplas), com uma borda fina aperolada ou com erosões superficiais. Este subtipo representa 10 a 30% do total dos CBC, e ocorre geralmente no tronco do corpo.

Histopatologia - consiste em lóbulos superficiais de células basaloides que se projetam desde a epiderme, ou desde as bordas de folículos ou ductos glandulares, para dentro da derme papilar; é rodeado por estroma laxo mixóide (Figura II.2.a).

- *CBC nodular (sólido)*: clinicamente se manifesta como nódulos perolados elevados, associados com telangiectasia (alteração da rede capilar), podendo-se converter em ulcerados ou císticos. Em outros casos pode aparecer como lesões planas endurecidas, com aspecto semelhante a hemangiomas (crescimento benigno dos vasos sanguíneos), ou a melanomas. Desenvolve-se mais comumente no rosto.

Histopatologia - consiste em grandes lóbulos de células basaloides com os núcleos da camada mais externa organizados em forma paliçada, que crescem dentro da derme reticular ou podem atingir camadas mais profundas (Figura II.2.b). Em alguns casos, os lóbulos podem ter associada degradação mucinosa com formação de cistos (Figura II.2.c), ou ter um aspecto cribriforme (Figura II.2.d) ou organóide.

- *CBC micronodular*: manifesta-se clinicamente como um tumor infiltrativo elevado ou plano. O sítio mais comum é nas costas.

Histopatologia - é visualizado como pequenos nódulos que penetram a derme, podendo atingir tecidos profundos (Figura II.2.e); os nódulos individuais podem ser separados por colágeno normal.

- *CBC infiltrativo*: apresenta-se como placas pálidas endurecidas pobremente definidas, poucas vezes acompanhadas de perda de sensibilidade. Manifesta-se no tronco superior ou no rosto.

Histopatologia - é composto de finos fios, cordas ou colunas de células basaloides que penetram entre as fibras de colágeno, podendo atingir tecidos profundos (Figura II.2.f). Não são observadas características paliçadas nas células periféricas, nem a presença de esclerose.

- *CBC fibroepitelial*: se apresenta como carnosidades elevadas e coloreadas, ou como nódulos eritematosos. Aparece geralmente nas costas.

Histopatologia – as células basaloides formam uma rede arborizada de cordas, que descem desde a epiderme até as camadas mais profundas, criando um aspecto fenestrado (Figura II.2.g); algumas cordas celulares rodeiam o estroma fibrovascular, ou podem estar relacionadas a dutos ou folículos.

- *CBC indiferenciado*: as características clínicas não são definidas.

Histopatologia – os tumores apresentam características semelhantes a anexos cutâneos, podendo ser folicular (Figura II.2.h), écrino, apócrino, brotos basaloides, elementos sebáceos, ductais ou triquilemais.

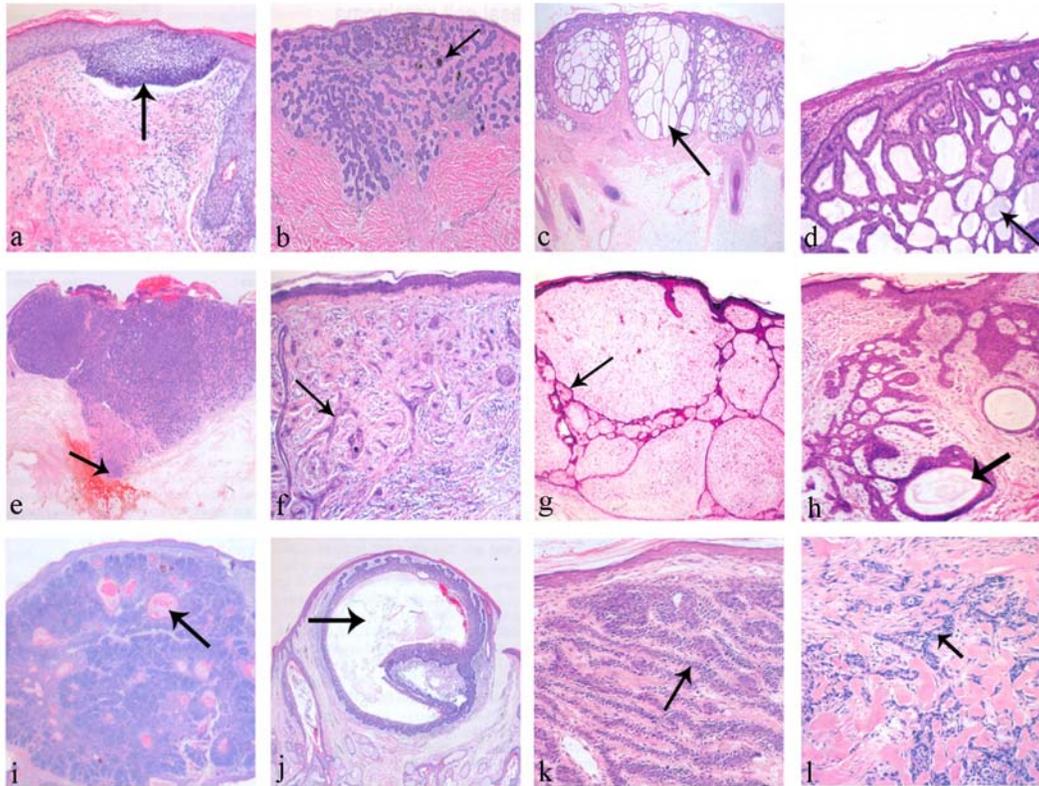


Figura II.2 – Tipos de CBC classificados segundo suas características histopatológicas. a) *Superficial*: observa-se um grupo sólido de células atípicas na união dermo-epidermal (seta). b) *Nodular pigmentado*: apresenta lóbulos de células basaloides característicos, junto a pigmentação nas massas tumorais (seta). c) *Nodular cístico*: espaços císticos são preenchidos com estroma (seta) e rodeados de células basaloides. d) *Nodular cribriforme*: observam-se células atípicas rodeando material amorfo (seta). e) *Micronodular*: as células atípicas estão agrupadas em massas muito pequenas, e invadem parte profunda da derme (seta). f) *Infiltrativo*: observam-se cordas de células atípicas invadindo a derme profunda (seta). g) *Fibroepitelial*: apresenta cordas de células basaloides (seta). h) *Diferenciado folicular*: são formadas estruturas semelhantes a folículos pilosos (seta). i) *Ceratótico*: entre as massas tumorais são visualizados cistos córneos de queratina (seta). j) *Cístico*: apresentam um espaço cístico (seta) rodeado de células basaloides. k) *Adenóide*: observam-se fitas de células basaloides (seta). l) *Morféico*: apresenta bandas de células tumorais (seta) misturadas com estroma fibroso denso. (WEEDON *et al.*, 2006).

- CBC *basoescamosos*: as características clínicas não são bem definidas.

Histopatologia - as células basaloides apresentam citoplasma mais abundante com

ceratinização mais acentuada; os núcleos apresentam cromatina vesicular, com pleomorfismo; podem apresentar aspecto de vacúolos lipídicos ou dutos, fibrose central ou um anel externo radiado de células infiltrantes.

- CBC *ceratótico*: possui aspecto aperolado, podendo apresentar pequenos cistos de queratina.

Histopatologia - no centro das massas tumorais são encontradas formações proeminentes de queratina ou cistos córneos (Figura II.2.i); a presença de calcificação distrófica é também comum nestes casos.

- CBC *cístico*: apresenta espaços císticos no centro das massas tumorais (Figura II.2.j), em alguns casos com presença aumentada de mucina.
- CBC *adenóide*: são finas fitas de células basaloides em disposição reticular (Figura II.2.k); frequentemente apresenta estroma mucinoso.
- CBC *morféico*: neste caso as bandas de células basaloides são embebidas em um estroma fibroso denso (Figura II.2.l).
- CBC *infundibular*: apresenta pequenas estruturas em forma de infundíbulos, com células basaloides envolta e um enchimento de queratina no centro; as massas tumorais se encontram anastomosadas.
- CBC *pigmentado*: a pigmentação pode acontecer em diferentes subtipos de CBC, tendo presença de melanócitos dispersos nas massas tumorais (Figura II.2.b), e melanófagos no estroma.

2.2. Carcinoma espinocelular (CEC).

É caracterizado pela presença de células espinhosas atípicas provenientes da epiderme ou das membranas mucosas, que se estendem na forma de massas, placas ou fitas atingindo diferentes profundidades da derme. As células possuem citoplasma abundante e núcleos grandes, as pontes celulares são proeminentes, e pode existir infiltrado inflamatório na periferia do tumor (WEEDON *et al.*, 2006).

O grau de ceratinização das células e a formação de pérolas córneas determinam o grau de diferenciação do tumor; quanto menos diferenciado for o tumor maior é sua agressividade. Ocasionalmente as células tumorais infiltram através de nervos, vasos sanguíneos, vasos linfáticos, ou regiões de fusão embriológica; tumores mais profundos

se apresentam mais agressivos. O grau de anaplasia ou as condições clínicas nas quais o tumor se manifesta são, também, parâmetros de agressividade.

- CEC *acantolítico*: manifesta-se clinicamente como uma escama de crescimento lento, podendo algumas vezes ulcerar. Representa 2 a 4% de todos os CEC e pode ser agressivo. Manifesta-se principalmente na cabeça e pescoço, mais comumente entorno das orelhas.

Histopatologia – as células apresentam perda das pontes intercelulares, produzindo acantólise (separação das células), e pode se estender envolvendo o epitélio de folículos (Figura II.3.a). Este tumor pode estar localizado intraepidemicamente ou ser invasivo. Outras características observadas com frequência são a formação de cavidades intraepidérmicas, disceratose, anomalia ceratinocítica, maturidade do epitélio alterada e incremento de figuras mitóticas típicas e atípicas.

- CEC *de células fusiformes*: apresenta-se como placas ou nódulos, às vezes de crescimento rápido, podendo gerar metástase.

Histopatologia – composto completamente por células fusiformes, com grandes núcleos vesiculares, escasso citoplasma, e bordas não bem definidas; o pleomorfismo é variável e apresenta abundante mitose.

- CEC *verrugoso*: apresenta aspecto de couve-flor, com superfície papilomatosa, de coloração pálida e muitas vezes doloroso. O local mais comum é na boca, apresentando-se também em genitais, na planta do pé e raramente na palma da mão, dedos e outras localizações.

Histopatologia - um processo epitelial proliferativo bem diferenciado é evidente nestes tumores; o epitélio apresenta regiões de crescimento endofítico e exofítico, penetrando as camadas mais profundas (Figura II.3.b). As células são levemente atípicas e com escassa atividade mitótica, neutrófilos estão comumente presentes na epiderme formando abscessos, em alguns casos pode ser observado também drenagem de fistulas.

- CEC *pseudovasacular*: se apresenta como uma úlcera branco/cinzenta bem definida, ou como um nódulo avermelhado. É uma variável agressiva de CEC.

Histopatologia – as células tumorais (poligonais ou aplanadas) se dispõem como cordas entrelaçadas, com um pseudo-lume interno contendo material amorfo e

células tumorais isoladas; ainda podem ser encontrados eritrócitos em espaços pseudo-vasculares.

- *Carcinoma adenoescamoso*: é uma variante pouco comum derivada de células pluripotenciais, e comumente gera metástase. Pode ter um aspecto de placa de textura suave assintomática, ou apresentar ulceração profunda. Manifesta-se principalmente em cabeça, pescoço e genitais.

Histopatologia – células escamosas atípicas disceratóticas formam línguas, lâminas, colunas ou cordas com crescimento que assemelha estruturas glandulares, acompanhado de secreções de mucina (Figura II.3.c e d).

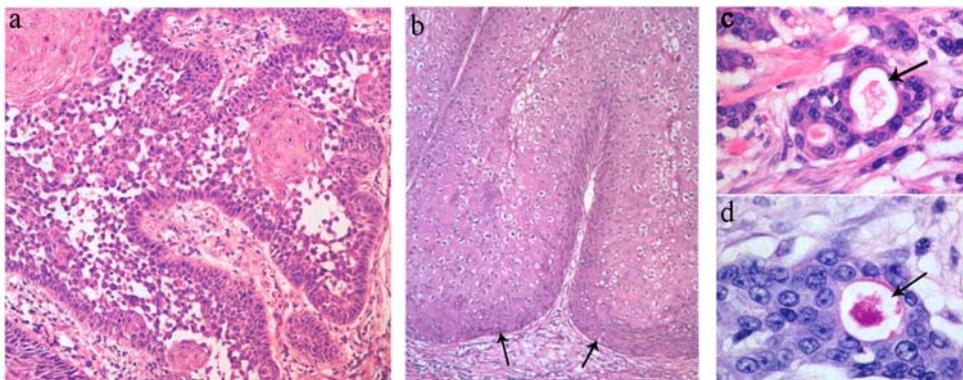


Figura II.3 – Histopatologia dos diversos tipos de CEC. a) Acanolítico: é observada uma perda de coesão entre células tumorais. b) Verrugoso: as massas tumorais apresentam um crescimento em forma de bulbo (setas). c, d) Adenoescamoso: são observadas estruturas semelhantes a glândulas, contendo secreções de mucina no interior (setas), (WEEDON *et al.*, 2006).

2.3. Doença de Bowen (DB).

A DB é um carcinoma de células escamosas, que se desenvolve dentro da epiderme sem invasão da derme. O aspecto clínico pode ser variado, apresentando uma ou múltiplas placas ou manchas eritematosas, arredondadas ou irregulares, lenticulares, escamosas, ceratóticas, fissuradas, crostosas, nodulares, erodidas, polipóides, verrucóides ou pigmentadas. Aparecem principalmente em pele foto-exposta (sendo cabeça, pescoço e pernas os sítios mais comuns), ou em genitais. Quando não são tratados podem desenvolver carcinomas invasivos (WEEDON *et al.*, 2006).

Histopatologia – as alterações nas células escamosas neste tipo de tumores se desenvolvem de forma intraepidérmica (*in situ*), sendo a membrana basal mantida intacta. Observa-se acantose (espessamento das camadas granulosa e espinhosa da

epiderme) com alongamento e espessamento das crestas epidérmicas e consequente estreitamento das papilas dérmicas, celularidade aumentada, perda da polaridade na epiderme, alterações no grau de maturidade dos queratinócitos, infiltrado inflamatório crônico na derme superficial, e elastose solar em algumas lesões (Figura II.4).

As células atípicas podem apresentar disceratose (ceratinização de células individuais), hiperkeratose, para-ceratose (frequente em células da camada córnea), hipo ou hipergranulose, ou ser vacuolizadas (em células das camadas mais superficiais da epiderme). Os núcleos celulares podem ser hiper-cromáticos, podem existir células multinucleadas, apresentar mitose anômala ou pigmentos de melanina junto a melanófagos.

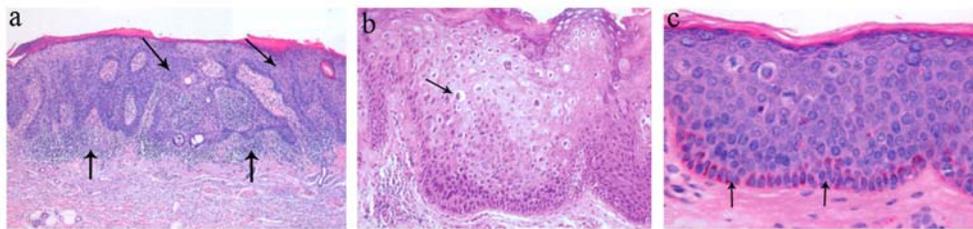


Figura II.4 – Características histopatológicas da DB. a) É observado um crescimento atípico de toda a epiderme (setas oblíquas) com presença de infiltrado inflamatório na derme papilar (setas verticais). b) Presença de células vacuoladas (seta) na epiderme. c) Queratinócitos atípicos em toda a espessura epidérmica, com hiperpigmentação das células da camada basal (setas). (WEEDON *et al.*, 2006).

3. Características das imagens obtidas por BMU.

As imagens de BMU são geradas mediante o modo-B de varredura (FISH, 1990). Para isto, o transdutor é posicionado sobre o tecido (utilizando um meio de acoplamento entre estes), e é excitado por um gerador de pulsos de alta tensão. O sinal elétrico que chega ao transdutor é transformado em um pulso de US, o qual se propaga ao longo do tecido. O sinal retroespalhado pelo tecido é capturado novamente pelo transdutor, o qual o transforma novamente num sinal elétrico. Posteriormente, é obtida a envoltória deste sinal, a qual irá constituir uma coluna no quadro de imagem, onde as amplitudes são representadas por níveis de cinza, sendo o eixo vertical relativo à profundidade do tecido (Figura II.5).

Finalmente, o transdutor é deslocado horizontalmente e o processo se repete, sendo assim adquiridos sucessivos sinais os quais irão representar as sucessivas colunas do quadro de imagem ao longo da varredura do transdutor.

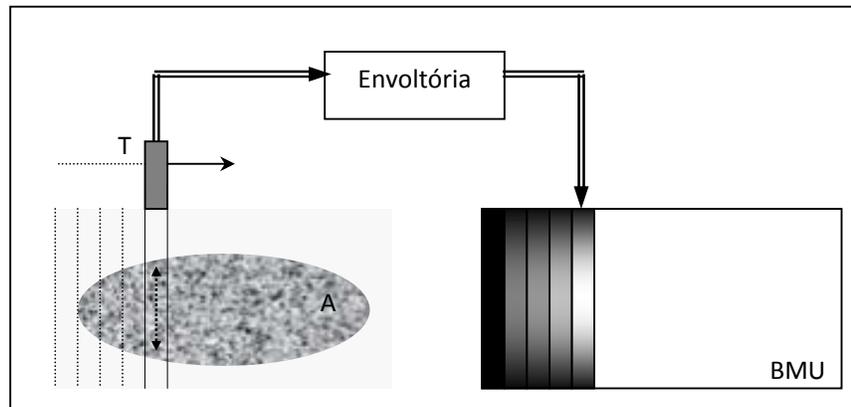


Figura II.5 – Diagrama da metodologia utilizada na reconstrução de imagens modo-B (T: transdutor; A: amostra de tecido).

Os sistemas de BMU operam em frequências numa faixa de 20-200 MHz, e com larguras de banda (BW, do inglês *band width*) de algumas dezenas de megahertz. As resoluções da imagem e a profundidade do campo podem ser calculadas a partir das seguintes equações (FOSTER *et al.*, 2000):

$$R_{ax} = \frac{1}{2} \cdot \frac{c}{BW} \quad (\text{II.1})$$

$$R_{lat} = \bar{\lambda} \cdot \left(\frac{d_f}{d_T} \right) = \bar{\lambda} \cdot (\text{número} - f) \quad (\text{II.2})$$

$$DOF = 7,0 \cdot \bar{\lambda} \cdot (\text{número} - f)^2, \quad (\text{II.3})$$

nas quais R_{ax} e R_{lat} representam as resoluções axial e lateral (no sentido de propagação do feixe e no sentido da trajetória do transdutor de US, respectivamente); DOF (do inglês *depth of field*) é a profundidade do campo que pode ser visualizada na imagem; c a velocidade do US no meio; $\bar{\lambda}$ o comprimento de onda médio do feixe; d_f a distância focal do transdutor de US; d_T o diâmetro da área ativa do transdutor; e número-f a razão destes dois últimos parâmetros.

Como pode ser deduzido das equações (II.1) e (II.2), melhoras nas resoluções axial e lateral podem ser obtidas com aumento na BW do feixe, o que na prática é possível de conseguir quando se trabalha com frequências maiores. Porém, como observado na equação (II.3), isto diminui o valor da DOF que pode ser obtida na imagem. Considerando a forma em que as variações na frequência afetam as

propriedades da imagem, se faz evidente o compromisso que existe entre resoluções e profundidade do campo que podem ser visualizados.

Sistemas típicos de BMU trabalham com uma frequência central (f_c) próxima a 50 MHz e com BW próxima a 30 MHz (PETRELLA, 2006). Com estes valores, as resoluções ficam na ordem de poucas dezenas de micrometros, tanto no sentido axial como lateral (sendo sempre maior o valor para o sentido lateral), e as DOF se reduzem a poucos milímetros.

Por sua vez, as ondas acústicas que atravessam um meio biológico experimentam uma atenuação relacionada exponencialmente com a frequência (ver item II.4). Com isto, trabalhar com frequências dentro da faixa utilizada em BMU deixa o poder de penetração das ondas acústicas reduzido a poucos milímetros.

4. Estudo de parâmetros acústicos.

Frequentemente, os sistemas de BMU podem ser adaptados para adquirir sinais de RF retroespalhados pelo tecido, sem prévio cálculo de suas envoltórias (como feito na reconstrução de imagens). Estes sinais são utilizados na computação de diversos parâmetros quantitativos, os quais proporcionam informação adicional além daquela observada nas imagens, podendo auxiliar na caracterização do tecido em estudo. Entre estes parâmetros estão aqueles que representam propriedades acústicas e estatísticas do meio. Entre os parâmetros acústicos mais frequentemente estudados encontram-se:

- Velocidade (c): a velocidade com que uma onda acústica longitudinal se propaga através de um meio, depende de sua densidade, assim como das forças de atração entre as moléculas que o compõem (FISH, 1990). Este parâmetro é, portanto, uma característica própria do meio, e pode ser definido pela equação (II.4), onde κ representa seu módulo elástico e ρ a sua densidade.

$$c = \sqrt{\frac{\kappa}{\rho}} \quad (\text{II.4})$$

- Coefficiente de atenuação e sua dependência em frequência (α e η): a atenuação é uma redução na intensidade do feixe de US, devida aos efeitos de absorção e

espalhamento que ocorrem quando a onda acústica se propaga pelo meio (FISH, 1990). Esta é uma característica tanto do meio de propagação como da frequência da onda, sendo que α relaciona as intensidades acústicas transmitidas e recebidas pelo transdutor (I_T e I_R respectivamente) após atravessar uma distância d , da seguinte forma (COBBOLD, 2007):

$$I_R = I_T \cdot e^{-\alpha \cdot d} \quad (\text{II.5})$$

$$\alpha_{\text{dB}} = \frac{10}{d} \cdot \log \left[\frac{I_T}{I_R} \right] \quad (\text{II.6})$$

$$\alpha_{\text{dB}} = \alpha_0 \cdot f^\eta, \quad (\text{II.7})$$

sendo α_0 [$\text{dB} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{MHz}^\eta$] o coeficiente de atenuação para uma frequência (f) de 1 MHz, e η o fator que determina a dependência de α_{dB} com f .

A diferença entre o termo α da equação (II.5) e o termo α_{dB} da equação (II.6), é que no primeiro caso as unidades são [$\text{Np} \cdot \text{m}^{-1}$], enquanto no segundo são [$\text{dB} \cdot \text{m}^{-1}$], sendo a relação entre elas $\alpha_{\text{dB}} = 8,6 \cdot \alpha$ (obtida por simples mudança de base logarítmica).

- Coeficiente de retroespalhamento e sua dependência em frequência (β e η_β): uma onda acústica experimenta espalhamento, quando incide sobre partículas imersas no meio de propagação cujos diâmetros são próximos ou maiores a seu $\bar{\lambda}$. O espalhamento acontece em todas as direções, porém, no caso particular do retroespalhamento, consideram-se unicamente aquelas ondas espalhadas no sentido oposto ao da onda incidente. A quantificação da potência da onda retroespalhada (\bar{W}) por um elemento de volume de espalhadores (dV) e por unidade de ângulo sólido ($d\Omega$), é relativa à intensidade da onda incidente em um determinado meio (I_i), e realizada através de β como (COBBOLD, 2007):

$$\beta = \frac{\bar{W}/d\Omega}{I_i \cdot dV}. \quad (\text{II.8})$$

De forma geral, o espalhamento aumenta com o tamanho das partículas e com f , até o momento em que $\bar{\lambda}$ se aproxima ao tamanho dos espalhadores, sendo esta relação dada por η_β ; a partir daí, não existe uma relação direta entre espalhamento e f .

- Coefficiente de retroespalhamento integrado (IBC): este coeficiente expressa as variações de β em função de d , sendo dado por (MACHADO e FOSTER, 2001):

$$IBC(d) = \left(\frac{2 \cdot \sigma \cdot R_q}{\Omega \cdot c \cdot D_s(d, \omega_0)} \right) \frac{\langle |V_s(d)|^2 \rangle}{\int_{-\infty}^{\infty} |V_{ref}(2d_f, t)|^2 dt}. \quad (II.9)$$

Nesta equação $|V_s|$ representa a amplitude do sinal retroespalhado (compensado dos efeitos da atenuação); $|V_{ref}|$ a amplitude de um sinal de referência, proveniente de um material refletor localizado no foco do transdutor (d_f) e com coeficiente de reflexão R_q ; t a variável tempo; σ o fator de correção para o sinal de referência obtido de um refletor plano localizado em d_f ; Ω o ângulo sólido subtendido pelo feixe de US; e ω_0 a frequência angular central. O termo D_s representa a curva para correção da difração do feixe, obtida como:

$$D_s(d, \omega) = \frac{\pi \cdot a^2}{d^2} \int_{Z=0}^{Z=k \cdot a} 8 \left\{ \left[u_1(Y, Z) \cdot \frac{Z}{Y} \right]^2 + \left[u_2(Y, Z) \cdot \frac{Z}{Y} \right]^2 \right\} Z^{-3} \cdot \frac{1}{\sqrt{1 - (Z/k \cdot a)^2}} \cdot dZ, \quad (II.10)$$

sendo a o radio da abertura do transdutor, k o número de onda, $Y=(k \cdot a^2/d) \cdot (1 - d \cdot \cos(\theta/d_0))$, $Z=k \cdot a \cdot \sin(\theta)$, θ o ângulo de abertura do feixe medido desde seu eixo central, $u_1(Y, Z)$ e $u_2(Y, Z)$ as funções de Lommel de primeira e segunda ordem respectivamente.

5. Estudos dos parâmetros estatísticos.

A forma com que as ondas acústicas se propagam por um meio biológico pode ser muito variável, segundo as características dos espalhadores nele presentes. Estas

características se referem aos tamanhos dos espalhadores, suas geometrias, à forma em que eles se distribuem no meio, entre outras. No caso específico de tecido cutâneo, os espalhadores consistem principalmente das células (mais especificamente dos núcleos celulares), e das fibras de colágeno.

Uma forma de determinar as características dos espalhadores que compõem um meio é através de uma análise estatística dos sinais de US por ele retroespalhados. Este tipo de análise pode ser feito utilizando as envoltórias dos sinais de RF, com cujos valores é construído um histograma. Posteriormente, diversos modelos estatísticos de funções de densidade de probabilidade (PDF, do inglês *probability density function*) podem ser ajustados aos valores deste histograma. Estas PDF são descritas em função de parâmetros que caracterizam tanto suas formas como suas amplitudes, e que por sua vez, quando ajustados aos valores do histograma representam as características dos espalhadores que compõem o meio.

Neste contexto, as condições de um meio podem ser classificadas como pertencentes a um de três possíveis grupos (SHANKAR *et al.*, 2001): um meio obedece às condições de *Rayleigh*, quando nele existe uma densidade alta de espalhadores, distribuídos aleatoriamente e com secções de choque uniforme (a qual se define como a razão entre a potência espalhada e a intensidade incidente); um meio apresenta características *pré-Rayleigh* quando a densidade dos espalhadores é baixa, ou quando as secções de choque dos espalhadores apresentam uma distribuição aleatória; finalmente, um meio obedece às condições *pós-Rayleigh* ou *Rician* quando existe certa periodicidade na distribuição dos espalhadores, com espaçamentos relacionados a múltiplos inteiros ou frações do λ .

Entre os modelos de PDF mais frequentemente utilizados na caracterização de meios biológicos, estão: Rayleigh, Rician, *K*, Nakagami, Weibull, Gamma Generalizada ou algumas combinações dos mesmos. Embora existam diversos modelos, foram aqui tratados aqueles que, segundo a literatura, melhor representaram as características do tecido cutâneo. Conjuntamente foi estudada a relação sinal/ruído, a qual também proporciona informação sobre as características dos espalhadores presentes no meio.

- Relação Sinal/Ruído (SNR, do inglês *signal-to-noise ratio*): este parâmetro está relacionado à densidade dos espalhadores presentes no meio, e é obtido diretamente a partir das amplitudes das envoltórias dos sinais retroespalhados (R), segundo:

$$\text{SNR} = \frac{\langle R \rangle}{\sqrt{\langle R^2 \rangle - \langle R \rangle^2}}, \quad (\text{II.11})$$

onde $\langle \cdot \rangle$ denota o valor esperado ou média (SHANKAR *et al.*, 2001). Quando o valor da SNR é próximo a 1,91 o meio obedece às condições de Rayleigh; quando a SNR apresenta valores inferiores a 1,91 o meio apresenta características pré-Rayleigh; e quando os valores da SNR são superiores a 1,91 o meio segue as condições de Rician (RAJU *et al.*, 2003).

- *Nakagami*: este modelo de PDF é representado por (SHANKAR *et al.*, 2001):

$$p(R) = \frac{2 \cdot m_N^{m_N} \cdot R^{2 \cdot m_N - 1}}{\Gamma(m_N) \cdot \Omega_N^{m_N}} \cdot e^{\left(-\frac{m_N \cdot R^2}{\Omega_N}\right)} \cdot U(R), \quad (\text{II.12})$$

onde Γ representa a função gamma e U a função degrau unitário. A variável m_N é o parâmetro estatístico relacionado à forma da PDF, e caracteriza a densidade dos espalhadores no meio, sendo obtida pela equação (II.13); a variável Ω_N é o parâmetro estatístico de escala, e caracteriza a amplitude das secções de choque, sendo calculada pela equação (II.14).

$$m_N = \frac{[\langle R^2 \rangle]^2}{[\langle R^2 - \langle R \rangle^2 \rangle]^2} \quad (\text{II.13})$$

$$\Omega_N = \langle R^2 \rangle \quad (\text{II.14})$$

A distribuição de Nakagami segue as condições de Rayleigh quando $m_N=1$, as condições pré-Rayleigh quando $0,5 \leq m_N \leq 1$ e as condições de Rician quando $m_N > 1$. Porém, uma situação não contemplada por este modelo é quando a densidade dos espalhadores é muito fraca ou quando existem grandes variações nas seções de choque, o qual leva a valores de $m_N < 0,5$.

Para se trabalhar com valores de $0 < m_N < \infty$ é introduzida uma mudança de variável na equação II.12, que estabelece a igualdade $R^2 = Z_G$, chegando numa nova

distribuição denominada Nakagami-Gamma ou simplesmente Gamma, definida como:

$$p(Z_G) = \frac{m_N^{m_N} \cdot Z_G^{m_N-1}}{\Gamma(m_N) \cdot \Omega_N^{m_N}} \cdot e^{-\left(\frac{m_N}{\Omega_N} Z_G\right)} \cdot U(Z_G). \quad (\text{II.15})$$

- **Weibull**: este modelo de PDF é definido por (RAJU e SRINIVASAN, 2002):

$$p(R) = \frac{b_w}{a_w} \cdot \left(\frac{R}{a_w}\right)^{b_w-1} \cdot e^{-\left(\frac{R}{a_w}\right)^{b_w}}, \text{ para } a_w > 0 \text{ e } b_w > 0. \quad (\text{II.16})$$

Nesta equação, a_w e b_w são os parâmetros estatísticos de escala e de forma, respectivamente. Estes parâmetros são calculados utilizando o método de máxima verossemelhança (ML, do inglês *maximum likelihood*), mediante o qual é utilizada a função logarítmica da PDF (equação II.17). A seguir, esta equação é derivada em função de a_w e igualada a zero, chegando-se na relação dada em (equação II.18), (RAJU *et al.*, 2003).

$$L(R_1, \dots, R_N, a_w, b_w) = N \cdot \ln(b_w) + (b_w - 1) \cdot \sum_{i=1}^N R_i - \sum_{i=1}^N \left(\frac{R_i}{a_w}\right)^{b_w} - N \cdot b_w \cdot \ln(a_w) \quad (\text{II.17})$$

$$a_w = \left(\frac{\sum_{i=1}^N R_i^{b_w}}{N} \right)^{1/b_w} \quad (\text{II.18})$$

Para se obterem os parâmetros por este método, uma série de valores são designados arbitrariamente a b_w , com os quais se calculam os respectivos valores de a_w . O par de valores que maximiza a equação de ML será o que melhor ajusta a curva aos dados do histograma, e por tanto o escolhido para representar o meio.

Para este modelo de PDF, se cumprem as condições de Rayleigh quando $b_w=2$, as condições pré-Rayleigh quando $0 < b_w < 2$ e as condições de Rician quando $b_w > 2$.

- Gamma Generalizada (GG): este modelo de PDF se define por (RAJU e SRINIVASAN, 2002):

$$p(R) = \frac{c_{GG} \cdot R^{(c_{GG} \cdot v_{GG} - 1)}}{a_{GG}^{c_{GG} \cdot v_{GG}} \cdot \Gamma(v_{GG})} \cdot e^{-\left(\frac{R}{a_{GG}}\right)^{v_{GG}}}, \text{ para } a_{GG}, v_{GG}, c_{GG} > 0. \quad (\text{II.19})$$

Nesta equação a_{GG} representa o parâmetro de escala, enquanto v_{GG} e c_{GG} representam os dois parâmetros de forma, os quais ajustam de maneira mais ou menos independente os lados direito e esquerdo da curva. Aqui também se aplica o método de ML para o cálculo dos parâmetros (RAJU *et al.*, 2003), onde a função logarítmica é dada pela equação (II.20), sendo o valor de c_{GG} o que varia arbitrariamente, a partir do qual são obtidos os respectivos valores de v_{GG} e a_{GG} mediante as equações (II.21) e (II.22).

$$L(R_1, \dots, R_N, a_{GG}, v_{GG}, c_{GG}) = N \cdot \ln(c_{GG}) + (c_{GG} \cdot v_{GG} - 1) \cdot \sum_{i=1}^N \ln(R_i) - \sum_{i=1}^N \left(\frac{R_i}{a_{GG}}\right)^{c_{GG}} - N \cdot c_{GG} \cdot v_{GG} \cdot \ln(a_{GG}) - N \cdot \ln(\Gamma(v_{GG})) \quad (\text{II.20})$$

$$v_{GG} = \left\{ c_{GG} \left(\frac{\sum_{i=1}^N \ln(R_i)}{N} - \frac{\sum_{i=1}^N R_i^{c_{GG}} \cdot \ln(R_i)}{\sum_{i=1}^N R_i^{c_{GG}}} \right) \right\}^{-1} \quad (\text{II.21})$$

$$a_{GG} = \left(\frac{\sum_{i=1}^N R_i^{c_{GG}}}{N \cdot v_{GG}} \right)^{1/c_{GG}} \quad (\text{II.22})$$

A distribuição GG apresenta vários casos especiais: quando $v_{GG}=1$ e $c_{GG}=2$ a PDF obedece às condições de Rayleigh; quando $c_{GG}=2$ equivale à PDF de Nakagami; quando $c_{GG}=1$ equivale à PDF Gamma; e finalmente quando $v_{GG}=1$ equivale à PDF de Weibull.

Capítulo III: Revisão Bibliográfica

No presente capítulo, são apresentadas as principais técnicas de diagnóstico por imagens utilizadas em dermatologia, incluindo BMU. Alguns estudos nesta área, envolvendo o cálculo de parâmetros quantitativos a partir de sinais de US, também são apresentados.

1. Técnicas de diagnóstico por imagens em dermatologia.

Mediante as técnicas aqui apresentadas, à exceção da MO e de microscopia eletrônica de varredura, as imagens cutâneas são obtidas em forma não invasiva (embora estudos *in vitro* sejam aplicados com fins experimentais em alguns casos). As características das imagens obtidas variam consideravelmente segundo o princípio utilizado em cada técnica, sendo que uma ou outra pode resultar mais adequada, segundo as características específicas do caso em estudo.

- Microscopia óptica (MO): esta é a técnica padrão utilizada no estudo anatomopatológico de tecidos, a qual permite caracterizar de forma precisa os componentes histológicos neles presentes, mediante a visualização de estruturas a níveis celulares e sub-celulares. O procedimento consiste em obter uma biópsia do paciente, que posteriormente passa por um processo de preparo envolvendo várias etapas (fixação em formol, imersão em parafina, corte em lâminas, desparafinização em xileno, re-hidratação em álcool graduado, depósito em lâminas de vidro e coloração); as lâminas de tecido resultantes são observadas mediante um microscópio óptico com ampliações que chegam até 1000X (Figura III.1). Para uma avaliação mais completa das lesões, alguns pesquisadores aplicaram algoritmos de processamento em imagens obtidas por MO; LEE *et al.* (2006) quantificaram a organização dos núcleos celulares em casos de CBC e ceratose seborréica, a fim de caracterizar a agressividade destas lesões.
- Microscopia eletrônica de varredura: este sistema utiliza feixes de elétrons gerados por um canhão, altamente focalizados por um conjunto de lentes condensadoras e direcionado por bobinas ou placas defletoras. Os sinais utilizados para a formação da imagem são elétrons secundários, elétrons retroespalhados e luz. Os elétrons

secundários são gerados quando o feixe atinge os orbitais do átomo, causando a expulsão de seus elétrons devido à energia transferida (fornecem informação da topografia de superfície). Os elétrons retroespalhados são aqueles provenientes do feixe emitido pelo gerador, e refletidos ao interagir com a matéria em estudo (permite caracterizar a composição da amostra). A luz é gerada quando os átomos excitados por elétrons de alta energia retornam ao seu estado de equilíbrio. As amostras para serem observadas por esta técnica devem ser sólidas e condutoras, sendo para isso necessário um processo de preparo que inclui fixação (para estabilizar a estrutura), corte em lâminas, coloração (com o qual se impregna de material condutor) e desidratação. As resoluções podem atingir entre 2 e 5 nm, e a penetração varia entre 100 nm e 5 μm . NAKADA *et al.* (2004) estudaram a distribuição de melanina em diferentes tipos de células e estruturas, comparando a epiderme de regiões foto-protegidas e foto-expostas, tendo observado no segundo caso, maiores quantidades de melanina, um maior número de macrófagos, assim como alterações no sistema imune da pele (Figura III.2).

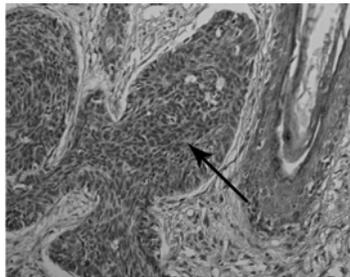


Figura III.1 – Imagem de CBC obtida por MO; as massas tumorais (seta) correspondem às regiões mais escuras, dentro da qual é possível observar os núcleos celulares como pequenas estruturas ovais (SON *et al.*, 2008).

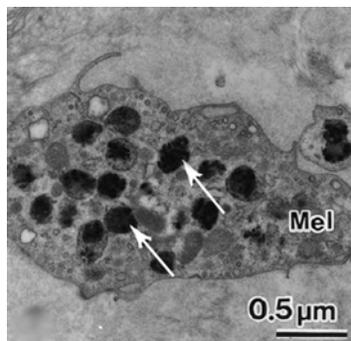


Figura III.2 - Imagem de microscopia eletrônica de varredura mostrando complexos de melanosomas (setas) em melanóforos (Mel) de pele foto-exposta (NAKADA *et al.* 2004).

- Dermoscopia: esta técnica realiza o registro de imagens da superfície e sub-superfície da pele, a qual apresenta um aspecto translúcido ao combinar iluminação, imersão em óleo, e amplificação óptica (lentes) de aproximadamente 10X; as imagens são registradas utilizando câmeras ópticas convencionais. A técnica tem maior aplicabilidade em lesões onde a pigmentação é uma característica significativa. CELEBI *et al.* (2007) e STANLEY *et al.* (2007) desenvolveram algoritmos para determinar contornos e discriminar níveis de pigmentação de melanomas, em imagens obtidas por dermoscopia (Figura III.3).

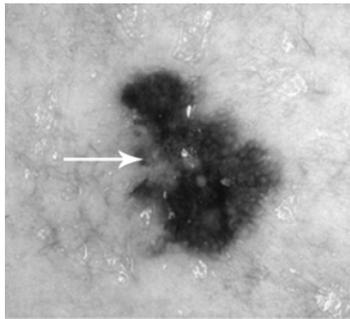


Figura III.3 - Melanoma (seta) visualizado como uma estrutura mais escura em imagem obtida por dermoscopia (CELEBI *et al.*, 2007).

- Microscopia por raios-X com contraste de fase: mediante este método são obtidos planos de imagem transversais à superfície do tecido, com resoluções próximas a 1 μm , e em tempo-real. Para isto, são utilizadas fontes de raios-X junto a espelhos condensadores que focalizam o feixe. Com esta técnica é possível obter um realce das bordas, devido à refração que acontece quando uma onda passa de um meio para outro com densidade diferente (ao contrário da técnica de raios-X convencional, na qual as estruturas são visualizadas por diferenças nos níveis de absorção, proporcionando pouca definição das bordas). SON *et al.* (2008) estudaram casos de CBC *ex vivo* com esta técnica, conseguindo diferenciar diversas estruturas presentes no tecido (Figura III.4).
- Tomografia por coerência óptica: esta técnica baseia-se no uso de luz infravermelha que é retroespalhada pelo meio, permitindo a geração de imagens cutâneas em modo-B. As resoluções axiais e laterais são próximas a 10 e 20 μm respectivamente, a penetração é ligeiramente superior a 1 mm, e o tempo de aquisição do quadro de imagem é aproximadamente 4 s. JORGENSEN *et al.* (2008) estudaram vários casos de CBC, nos quais as massas tumorais foram visualizadas como estruturas opacas,

rodeadas pelo estroma de aspecto brilhante (Figura III.5). Porém, na maioria dos casos analisados, o contraste entre região tumoral e tecido sadio foi baixo, e as características da imagem não foram suficientes para fins diagnósticos.

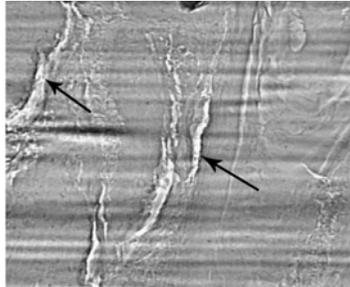


Figura III.4 - Imagem de CBC obtida por microscopia por raio-X com contraste de fase; os traços brilhantes (setas) correspondem às interfaces entre massas tumorais e o tecido adjacente (SON *et al.*, 2008).

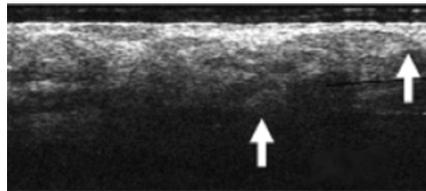


Figura III.5 - Imagem de CBC obtida por tomografia de coerência ótica; a região ocupada por massas tumorais (não bem delimitadas) e estroma apresenta características heterogêneas de brilho (setas), (JORGENSEN *et al.*, 2008).

- Terahertz Pulsado: faz uso do espectro de ondas eletromagnéticas (coerentes) com frequências numa faixa intermédia entre as do infravermelho e as das microondas (0,1-10 THz). As imagens são reconstruídas em planos paralelos à superfície, a partir da radiação refletida pelas estruturas, e o contraste nestas imagens é proporcionado por diferenças tanto na reflexão quanto na absorção das ondas. Um sistema de terahertz pulsado típico trabalha em 3 THz, com o qual proporciona resoluções axiais e laterais de 20 e 150 μm respectivamente, precisando de um intervalo de tempo para a aquisição de um quadro de imagem (de 25x25 pontos) inferior a 100 s. WALLACE *et al.* (2004) avaliaram o potencial da técnica para diferenciar entre casos de CBC e de tecido sadio, tanto *in vivo* como *ex vivo*, e para delimitar as margens dos tumores antes da excisão (Figura III.6); os diferentes tipos de carcinoma foram bem identificados, e apresentaram diferenças significativas com o tecido sadio.

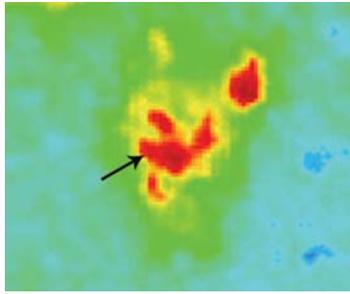


Figura III.6 - Imagem de CBC obtida por terahertz pulsado; a região vermelha (seta) corresponde com a extensão do tumor (WALLACE *et al.*, 2004).

- Ressonância Magnética: para a geração de imagens, esta técnica utiliza a radiação que os núcleos atômicos emitem ao relaxar, após terem entrado em estado de ressonância quando submetidas a um campo magnético transitório, sendo que o espectro desta radiação é característico para os diferentes tipos de moléculas presentes no corpo. As imagens são construídas em cortes transversais à superfície do tecido, com tamanhos do voxel (resoluções) de 10 mm^3 aproximadamente. Devido às baixas resoluções, suas aplicações em dermatologia estão limitadas ao estudo de estruturas hipodérmicas (Figura III.7), já que não é possível identificar as espessuras de epiderme ou derme (GENSANNE *et al.*, 2008).



Figura III.7 - Imagem da hipoderme obtida por ressonância magnética, apresentando aspecto brilhante (GENSANNE *et al.*, 2008).

- Microscopia laser confocal: as imagens são geradas em planos paralelos à superfície do tecido e em tempo-real. Para isto, pequenos pontos do tecido são iluminados utilizando um feixe de luz focalizado, e a luz retro-espalhada na região focal do feixe é coletada para geração da imagem. A resolução axial (espessura da camada) varia entre $3\text{-}5 \mu\text{m}$, a resolução lateral (abertura do feixe) é próxima a $0,5 \mu\text{m}$, e a penetração máxima do feixe (profundidade do plano) varia entre $150\text{-}300 \mu\text{m}$, dependendo das características do tecido. GOLDGEIRER *et al.* (2003) estudaram a evolução de um caso de CBC durante o período de tratamento, no qual foi possível identificar estruturas celulares e sub-celulares (Figura III.8). Porém, a possibilidade

de utilizar esta técnica como ferramenta primária de diagnóstico é ainda limitada, e os valores de penetração não são suficientes para o estudo de tumores profundos.

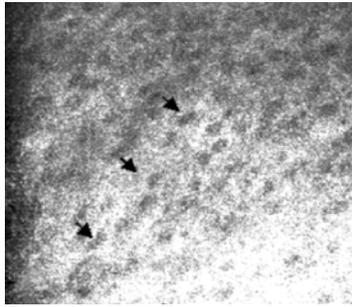


Figura III.8 - Imagem de CBC obtida por microscopia laser confocal. Os núcleos das células tumorais (setas) podem ser identificados como estruturas opacas de forma oval (GOLDGEIRER *et al.*, 2003).

- Capacitância: com esta técnica é gerada uma imagem da capacitância da pele, quando sobre ela é colocada um arranjo de eletrodos que entra em contato com sua superfície por alguns segundos. As imagens proporcionam informação tanto da topografia como da hidratação cutânea. Os capacitores são espaçados por uma distância de 50 μm (resolução lateral), e os valores de capacitância são codificados em 256 níveis de cinza para reconstrução da imagem. XHAUFLAIRE-UHODA e PIÉRARD (2007) aplicaram esta técnica para avaliação de pacientes com acne (Figura III.9).

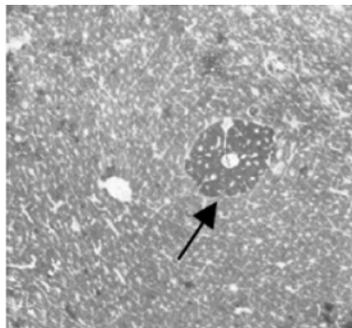


Figura III.9 - Imagem obtida por capacitância mostrando uma pápula inflamatória (seta) em um paciente com acne (XHAUFLAIRE-UHODA e PIÉRARD, 2007).

- Videocapilaroscopia: com este método é possível observar o leito vascular superficial em tecido cutâneo, mediante iluminação com luz branca e registro de imagens de vídeo através de objetivas de alta potência. As ampliações atingidas

com esta técnica são próximas a 77X. BEDLOW *et al.* (1999) fizeram estudos em casos de CBC, e observaram uma relação direta entre o nível de vascularização e a agressividade dos tumores (Figura III.10).

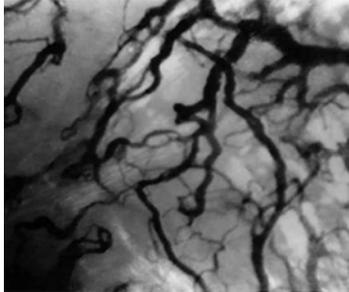


Figura III.10 - Imagem do leito vascular (estruturas opacas sinuosas) associado a um caso de CBC, obtida por videocapilaroscopia (BEDLOW *et al.*, 1999).

2. Aplicações da BMU em dermatologia.

As características das imagens cutâneas obtidas por BMU, como resolução, profundidade, orientação do plano de imagem, contraste, entre outras, diferem consideravelmente com aquelas apresentadas por muitas das técnicas previamente descritas. As resoluções obtidas por BMU, de poucas dezenas de micrômetros, podem ser adequadas em diversas aplicações onde as características anatômicas do tecido estão sendo avaliadas; porém, para casos onde a visualização de estruturas a níveis celulares ou sub-celulares sejam de interesse, técnicas que proporcionem resoluções de poucos micrômetros (ou inferiores) serão necessárias. As profundidades das imagens obtidas por BMU, de alguns milímetros, são na maioria dos casos suficientes para visualizar epiderme e derme, sendo uma vantagem quando comparada com muitas das outras técnicas, as quais possuem penetrações consideravelmente inferiores. O contraste observado nas imagens de BMU varia muito segundo as características (impedância acústica) dos componentes histológicos presentes no tecido em estudo. Muitas das técnicas apresentadas, assim como BMU, permitem a realização de estudos não invasivos, o qual é fundamental quando o objetivo é avaliar a evolução de processos fisiológicos, como por exemplo, a resposta a tratamentos terapêuticos de um tumor.

Por tanto, quando apresentado um caso em clínica dermatológica que precisa ser avaliado, dependerá das características específicas do mesmo, a escolha da técnica que melhor atenda às necessidades, considerando as diversas possibilidades; sendo que em

muitas situações mais de uma técnica podem se complementar, proporcionando uma avaliação mais completa.

Visando aprimorar o potencial da BMU nesta área, diversos estudos experimentais são conduzidos incluindo além da análise qualitativa de imagens, o estudo quantitativo de diversos parâmetros. Uma revisão destes tipos de estudos são apresentados a seguir em quatro grupos, segundo o tipo de metodologia utilizada.

2.1. Estudo de dimensões e ecogenicidade.

Em diversos trabalhos foram avaliadas estruturas cutâneas sadias ou anômalas, mediante análise das imagens obtidas por BMU. Em alguns deles esta análise foi feita mediante observação das características qualitativas da imagem, enquanto em outros, parâmetros quantitativos de ecogenicidade ou medidas de dimensões foram obtidos.

Um parâmetro muito estudado por diversos autores, como fator associado a diferentes processos fisiológicos, é a espessura da pele. SCHOU *et al.* (2004) observaram os valores de espessura e a fração de pixels hipoeecóicos, tanto para derme como para hipoderme, em diferentes regiões do corpo de crianças sadias; observaram aqui variações nas espessuras da derme e hipoderme relacionadas à prática de atividade física. MIRPURI *et al.* (2001) mediram os valores de espessura da pele em abdômen de mulheres grávidas relacionando-os a índices de hipertensão; as espessuras da pele observadas em mulheres grávidas não hipertensivas foi menor do que as de mulheres não grávidas, enquanto para mulheres grávidas hipertensivas a espessura de pele foi semelhante à de mulheres não grávidas. CHEN *et al.* (2001) avaliaram mudanças na espessura da derme, causadas por tratamento com hormônios em mulheres pós-menopáusicas; as espessuras observadas na pele foram maiores nas pacientes que receberam o tratamento.

Devido à significância nos valores da espessura da derme para caracterização de diversas condições fisiológicas, alguns autores têm trabalhado no desenvolvimento de algoritmos matemáticos a fim de aprimorar a exatidão destas medidas. Neste contexto, LAGARDE *et al.* (2005) desenvolveram um sistema para medição automática da espessura da derme, a partir de imagens em modo-B (Figura III.11.a), utilizando a técnica de contornos ativos. NOUVEAU-RICHARD *et al.* (2004) realizaram estudos *in vivo* para avaliar a exatidão e a reprodutibilidade nas medições de espessura da pele.

Outros processos fisiológicos foram estudados por WALLER e MAIBACH (2005), como por exemplo o efeito da idade, da exposição ao sol, do ar e da umidade, os quais ocasionam mudanças tanto morfológicas como ecogênicas das estruturas cutâneas.

Em outros trabalhos foram avaliados o tamanho de lesões cutâneas não malignas e suas ecogenicidades. GOTTLÖBER *et al.* (1997) estudaram casos de fibrose crônica causada por exposição à radiação ionizante e avaliaram mudanças na espessura da derme; as alterações características deste tipo de lesões foram bem identificadas nas imagens de BMU. DYSON *et al.* (2003) estudaram a evolução de processos de cicatrização de feridas, comparando as imagens obtidas por BMU com aquelas obtidas por fotografias; foram identificadas mudanças nos níveis de ecogenicidade relacionadas às diferentes etapas destes processos. BESSONART *et al.* (2005) analisaram pacientes com escaras hipertróficas e quelóides (Figura III.11.b), medindo as dimensões destas lesões; as escaras se apresentaram hipoecóicas e com margens bem identificáveis.

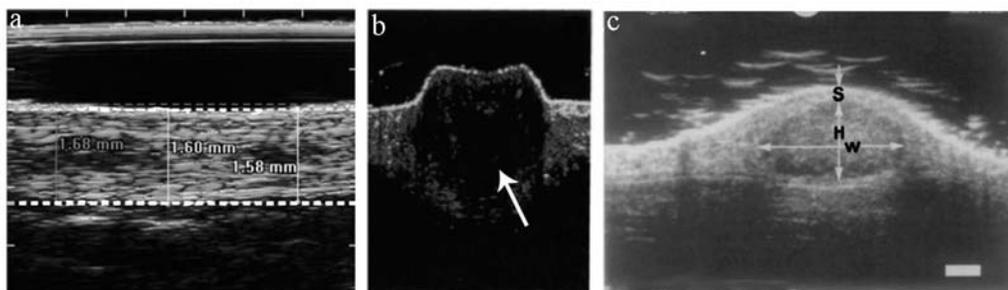


Figura III.11 – Imagens cutâneas obtidas por BMU: a) Medidas de espessura em pele sadia, onde a derme (delimitada por linhas tracejadas) é visualizada como uma banda ecóica (LAGARDE *et al.*, 2005). b) Escara hipertrófica visualizada como uma estrutura hipoecoica (seta), (BESSONART *et al.*, 2005). c) Melanoma cutâneo observado como uma estrutura oval com ecogenicidade heterogênea e borda relativamente bem delimitada (H: altura; W: largura; S: superfície da pele; barra: 0,5 mm), (TURNBULL *et al.*, 1996).

Alguns trabalhos foram orientados à caracterização de malignidade de tumores. FORNAGE *et al.* (1993) analisaram a regularidade das bordas de lesões, tanto malignas como benignas, assim como sua ecogenicidade interna. BESSOUD *et al.* (2003) avaliaram morfologias e dimensões de melanomas e nevos, utilizando as imagens de BMU junto com estudo Doppler. TURNBULL *et al.* (1996) diferenciaram os limites de melanomas cutâneos em camundongos pelas variações no nível de cinza (Figura III.11.c), e reconstruíram imagens 3D para medir o volume da massa tumoral. Nos três trabalhos mencionados, as lesões se apresentaram hipoecóicas ou com ecogenicidade

heterogênea, e com margens e dimensões relativamente bem definidas nas imagens de BMU. Porém, a especificidade para caracterizar malignidade das lesões ainda não é suficiente.

2.2. Cálculo de parâmetros acústicos.

Os parâmetros acústicos são valores quantitativos obtidos a partir dos sinais de RF retroespalhados pelo meio (ver Capítulo II). Entre os mais estudados encontram-se: velocidade do US no meio (c), coeficiente de atenuação (α) e seu coeficiente angular (η_α , ver Capítulo IV), coeficiente de atenuação integrado (IAC), coeficiente de retroespalhamento (β) e coeficiente de retroespalhamento integrado (IBC).

Estes parâmetros foram aplicados por diversos autores na caracterização estrutural de tecidos, tanto anômalos como sadios. MIYASAKA *et al.* (2005) construíram imagens paramétricas de c tanto em pele de regiões foto-expostas como foto-protegidas, e observaram alterações deste parâmetro devido à foto-exposição. RAJU *et al.* (2003) observaram reduções nos valores de α em casos de dermatite por contato. GUITTET *et al.* (1999) compararam os valores de α e η_α , obtidos tanto para derme como para hipoderme, observando que existe uma relação destes com o processo de envelhecimento. LEBERTRE *et al.* (2002) analisaram os valores de α , η_α , IAC, β e IBC em função da profundidade, mediante a construção de imagens modo-C (planos paralelos à superfície da pele); foi observado que as variações intra-indivíduo diminuíram com o aumento da área da região de interesse (ROI, do inglês *region of interest*), enquanto as variações inter-indivíduo foram maiores, indicando sensibilidade destes parâmetros ante mudanças estruturais. RAJU e SRINIVASAN (2001) mediram as variações nos valores de η_α , β e IBC tanto para derme como para hipoderme, não achando diferenças significativas para η_α , porém valores maiores de IBC foram observados na derme. FOURNIER *et al.* (2001) estudaram os valores do IBC e observaram aumentos destes em regiões mais profundas da derme.

2.3. Cálculo de parâmetros estatísticos.

Os parâmetros estatísticos são obtidos a partir das envoltórias dos sinais de RF retroespalhados pelo meio, com as quais é construído um histograma, que posteriormente se ajusta a um modelo de PDF. Os parâmetros relacionados à amplitude

e forma destas funções ajustadas, proporcionam informação sobre as características dos espalhadores presentes no tecido (ver Capítulo II).

Algumas pesquisas foram conduzidas a fim de avaliar estruturas normais ou patológicas mediante estes parâmetros. LEBERTRE *et al.* (2002) estudaram o ajuste das PDFs Rayleigh e K a histogramas obtidos de tecido cutâneo sadio, e observaram melhores resultados para a distribuição K . RAJU e SRINIVASAN (2002) ajustaram as PDFs de Rayleigh, Rician, K , Nakagami, Weibull e GG, para estudar a derme e hipoderme (Figura III.12), obtendo melhor ajuste para as distribuições de Weibull e GG. RAJU *et al.* (2003) compararam os parâmetros obtidos tanto para pele sadia como em casos de dermatite por contato, utilizando a SNR e as PDFs K , Weibull e GG; porém não foram observadas diferenças significativas entre os dois grupos de tecidos.

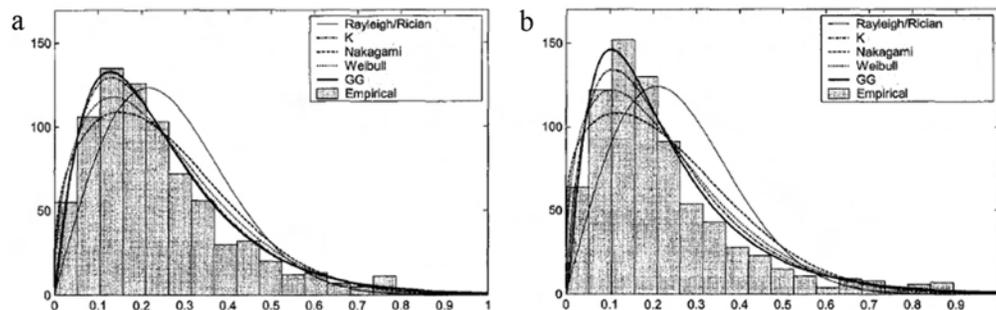


Figura III.12 – Histogramas das envoltórias dos sinais retroespalhados, obtidos de pele do antebraço, e ajuste das curvas de PDF: a) derme; b) hipoderme. (RAJU and SRINIVASAN 2002).

2.4. Estudo das propriedades mecânicas.

As propriedades mecânicas determinam a deformação que os tecidos experimentam quando são submetidos à ação de forças. Para isto, as características acústicas dos tecidos são analisadas ao aplicar diferentes níveis controlados de tensão mecânica, seja por observação de imagens de BMU ou mediante medições a partir dos sinais de RF retroespalhados pelo tecido.

DIRIDOLLOU *et al.* (1998) quantificaram o deslocamento vertical das diferentes camadas da pele, quando sobre elas foi aplicada uma pressão negativa controlada, utilizando sinais modo-A; observaram que a resistência apresentada é devida principalmente à tensão das estruturas dérmicas e a suas elasticidades, sendo que a hipoderme oferece menor resistência. PAN *et al.* (1998) estudaram a relaxação ao

estresse, contração e módulo de Young, conjuntamente com parâmetros acústicos em tecidos submetidos a cargas controladas, a fim de caracterizar processos fisiológicos que afetam a elasticidade da pele; o nível de cinza nas imagens modo-B aumentou com aumentos da tensão mecânica aplicada, α diminuiu, enquanto β não experimentou importantes modificações. GENNISSON *et al.* (2004) analisaram as propriedades elásticas de tecido cutâneo aplicando neles uma excitação mecânica (ondas de 300 Hz), sendo os deslocamentos resultantes medidos a partir dos ecos retroespalhados; a velocidade de propagação das ondas de baixa frequências, assim como a elasticidade, mostraram-se maior na derme que na hipoderme. VOGT e EMERT (2005) estudaram as deformações em tecido cutâneo sadio, cicatrizes de queimaduras e nevos, ao aplicar pressões negativas, utilizando as envoltórias dos sinais de RF retroespalhados pelo tecido, assim como imagens modo-B. Observaram que a deformação em pele sadia foi mais homogênea; as deformações axiais foram mais pronunciadas nos tecidos com cicatrizes; a elasticidade do nevo foi significativamente diferente daquela do tecido sadio em resposta a uma compressão axial.

Capítulo IV: Materiais e Métodos

1. Amostras de tecido biológico.

1.1. Seleção de pacientes voluntários.

O presente estudo foi realizado a partir de amostras de tecido cutâneo humano, obtidas de biópsias realizadas no Setor de Dermatologia do Hospital Universitário Gaffrée e Guinle (HUGG), da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO).

Os pacientes se apresentaram no mencionado setor de forma espontânea, e ante a suspeita das lesões corresponderem a carcinomas cutâneos, foram indicadas biópsias para estudo anatomopatológico com fins diagnósticos. Além disso, estes pacientes foram informados sobre os objetivos e procedimentos envolvidos no presente trabalho, e foi solicitada sua autorização para o estudo da biópsia por BMU, mediante assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Dos pacientes que se apresentaram com suspeita de carcinomas cutâneos, foram escolhidas para o presente estudo aquelas lesões cujos tamanhos eram suficientes para permitir a partição da amostra de tecido, ou a obtenção de duas amostras de regiões adjacentes. Assim, parte do tecido foi analisada por BMU, enquanto outra foi simultaneamente encaminhada para os estudos anatomopatológicos convencionais.

O procedimento proposto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HUGG, e pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa, com número de registro 14524, e parecer nº 170/2008.

1.2. Coleta de amostras de tecido cutâneo.

Tanto o método para extração das amostras de tecido, assim como suas dimensões e formas, variaram consideravelmente dependendo das características da lesão. Em alguns casos as lesões foram extraídas com bisturi e posteriormente divididas (Figura IV.1.a), sendo utilizada uma parte para diagnóstico por MO e outra para estudo por BMU. Em outros casos, as amostras de tecido foram extraídas com *punch* do centro da lesão (com diâmetros entre 3-5 mm), sendo também neste caso, uma amostra

utilizada para diagnóstico por MO e outro para estudos por BMU (Figura IV.1.b). O método de extração em cada caso analisado é apresentado no Anexo I.1.

Um conjunto de 57 biópsias correspondentes a diferentes tipos de carcinomas cutâneos foi estudado por BMU. Adicionalmente, foram utilizados para fins comparativos, amostras de tecido sem presença de tumor. Algumas destas correspondem a casos onde a biópsia de tecido carcinomatoso foi extraída junto a uma borda livre de tumor (4 biópsias). Outras pertencem a casos de ceratose actínica (3 biópsias), extraídos ante a inicial suspeita de corresponderem a casos de CBC.

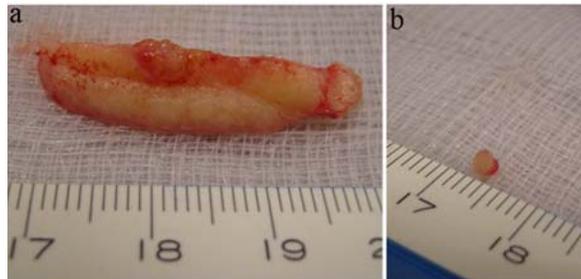


Figura IV.1 – Amostras de tecido cutâneo. a) Lesão contendo margem cirúrgica (extraída com bisturi). b) Tecido extraído do centro da lesão (com *punch* de 3 mm de diâmetro).

1.3. Manuseio das amostras de tecido.

Numa primeira etapa do trabalho, as amostras de tecido foram mantidas resfriadas (colocadas imediatamente em um embase térmico com gelo, sem adição de substâncias químicas), e posteriormente trasladadas até o Laboratório de Ultra-Som (LUS) do Programa de Engenharia Biomédica (PEB) - COPPE, onde se encontra disponível o sistema de BMU, para as respectivas aquisições de imagens e sinais.

Nestas primeiras amostras analisadas foi observada uma deterioração dos tecidos após as aquisições, devido a que os mesmos eram mantidos em solução salina (na temperatura ambiente) durante aproximadamente quatro horas. Para evitar este inconveniente, as subsequentes amostras extraídas foram imediatamente colocadas em solução de formol a 10%, para uma melhor conservação. O método de conservação para cada amostra de tecido é apresentado no Anexo I.1.

2. Estudo anatomopatológico.

As amostras de tecido extraídas para fins diagnóstico por MO (Item IV.1), foram encaminhadas ao Setor de Anatomia Patológica do HUGG, tendo sido as lâminas obtidas, utilizadas para comparação com as imagens geradas por BMU. Já as respectivas amostras utilizadas no estudo por BMU não foram analisadas por MO.

Para o estudo por MO, o tecido é preparado seguindo o método convencional que inclui: fixação, inclusão em parafina, corte em lâminas e coloração com HE. Posteriormente, as lâminas obtidas foram avaliadas utilizando um microscópio óptico (259286, Olympus, Japão) disponível no próprio PEB, sendo as imagens registradas mediante o acoplamento de uma câmera fotográfica convencional (FE-150, Olympus, China).

3. Sistema de BMU.

O sistema de BMU utilizado foi construído no próprio LUS do PEB - COPPE para uso experimental (PETRELLA *et al.*, 2006). Um diagrama do mesmo é apresentado na (Figura IV.2), e uma descrição das partes que o integram é dada a seguir.

Transdutor. O sistema utiliza um transdutor monoelemento de PVDF (C190240, Capistrano Labs, Califórnia, USA), que trabalha no modo emissor/receptor. Suas principais características são apresentadas na Tabela IV.1, e uma imagem do mesmo é observada na Figura IV.3.

Os valores de R_{ax} , R_{lat} e DOF foram obtidos das equações (II.1) a (II.3), a partir do espectro do pulso refletido por um disco de safira (material refletor) localizado no foco do transdutor. Na prática, devido à influência de outros componentes do sistema, os valores das resoluções observados nas imagens podem diferir daqueles calculados empiricamente.

Montagem da amostra de tecido. Para a aquisição de sinais e imagens, o tecido biopsiado foi montado sobre o disco de safira de altura ajustável com a hipoderme pousando no disco, e coberta com uma membrana de PVC a fim de mantê-la imóvel (Figura IV.3). Durante a aquisição de imagens foi realizada uma abertura na membrana de PVC, para que o eco refletido por esta não interferisse com os ecos provenientes da

epiderme. Já durante a aquisição de sinais, a membrana foi mantida intacta a fim de evitar qualquer movimento do tecido, e para obedecer às condições da metodologia utilizada.

Esta montagem contendo a amostra de tecido foi, por sua vez, inserida em uma cuba de acrílico preenchida com solução salina, que serve como meio de acoplamento entre o transdutor e a amostra. Toda esta montagem foi mantida a temperatura ambiente durante a coleta (entre 26-30 °C).

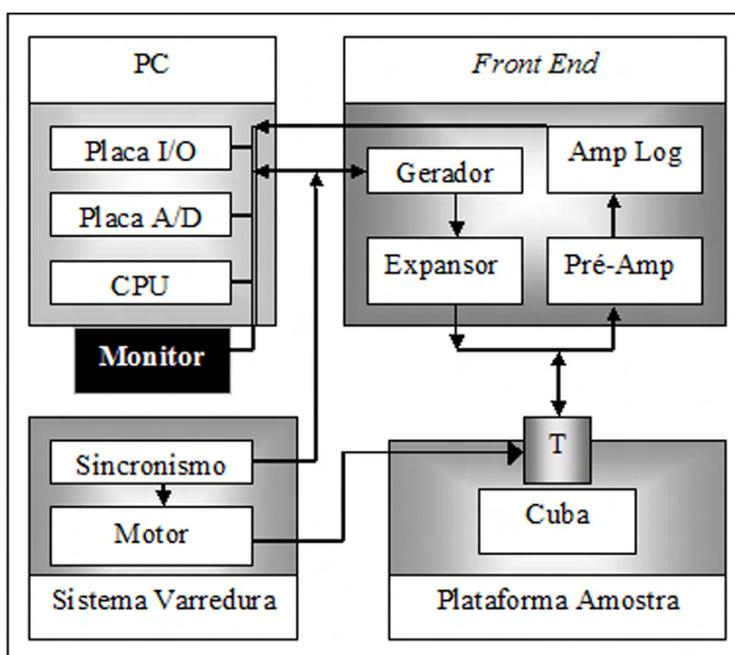


Figura IV.2 – Diagrama em blocos do sistema de BMU.

Tabela IV.1 – Características do transdutor.

CARACTERÍSTICA	VALOR	UNIDADE
d_T	5,0	mm
d_f	12,0	mm
número-f	2,4	-
BW (-6 dB)	30	MHz
f_c	45	MHz
R_{ax}	30	μm
R_{lat}	100	μm
DOF	1,7	mm

Plataformas de posicionamento. A cuba de acrílico foi montada sobre uma plataforma de posicionamento no plano horizontal X-Y (Figura IV.3), com precisão de

10 μm (M-436A, Newport, Irvine, USA), e com controle da inclinação dada por um sistema de ajuste adicional (M-39, Newport, Irvine, USA). Por sua vez, o transdutor e os outros componentes a ele acoplados (descritos a seguir), foram montados numa plataforma de posicionamento vertical Z com ajuste grosso (M-281, Newport, Irvine, USA) e fino com precisão de 10 μm (M-436, Newport, Irvine, USA), (Figura IV.4).

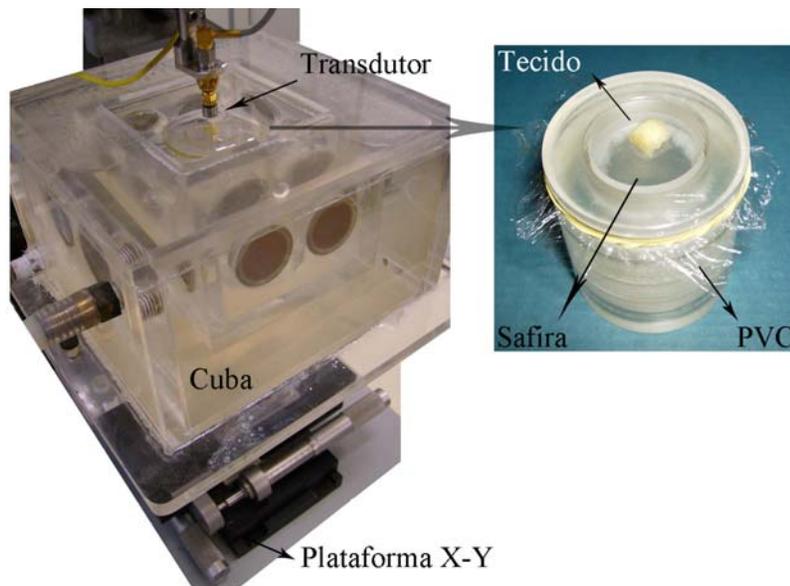


Figura IV.3 – Montagem da amostra de tecido para a coleta de dados: cuba de acrílico acoplada à plataforma de posicionamento no plano X-Y (lado esquerdo); tecido fixado entre o disco de safira e a membrana de PVC (lado direito).

Sistema de varredura e sincronismo. O transdutor foi acoplado a um sistema de varredura angular acionado por um motor dc (Figura IV.2). O motor se acopla a um codificador de posição, que emite pulsos de sincronismo, os quais disparam um gerador de pulsos de alta tensão (AVB2-TB-C, Avtech Eletrosystem, Ottawa, Canadá). Os pulsos de alta tensão excitam o transdutor (512 pulsos ao longo de sua trajetória), o qual emite os sinais de US ao meio, e recebe os sinais de RF retroespalhados por este, para posterior uso na construção da imagem.

Front end. Os sinais retroespalhados pelo tecido, e recebidos pelo transdutor, passam primeiro por um pré-amplificador (AU-1054, Miteq, Hauppauge, Canadá), que proporciona um casamento de impedância para uma adequada transmissão dos sinais aos demais componentes do sistema.

Um expansor de diodos (DEX-3, Matec, Northborough, EUA) acoplado ao transdutor, tem como função direcionar o sinal de excitação desde o gerador de pulsos até o transdutor durante a transmissão, e o sinal retroespalhado desde o transdutor até o pré-amplificador durante a recepção (Figura IV.4).

Os sinais amplificados passam posteriormente por um filtro passa banda, formado por uma associação série de um filtro passa-alta (BHP-25; Mini-Circuits, Brooklyn, NY, EUA) com frequência de corte em 25 MHz, com outro passa-baixa (BLP-70; Mini-Circuits, Brooklyn, NY, EUA) com frequência de corte em 70 MHz.

A saída do filtro é acoplada a um amplificador logarítmico (HLVA-100, FEMTO Messtechnik GmbH, Alemanha) o qual possui uma faixa de tensão de entrada de $2 V_{pp}$, e faixa dinâmica de 80 dB. Suas funções são realçar as amplitudes mais baixas dos sinais de RF e fornecer suas envoltórias na saída, proporcionando um nível máximo de tensão de $1 V_p$.

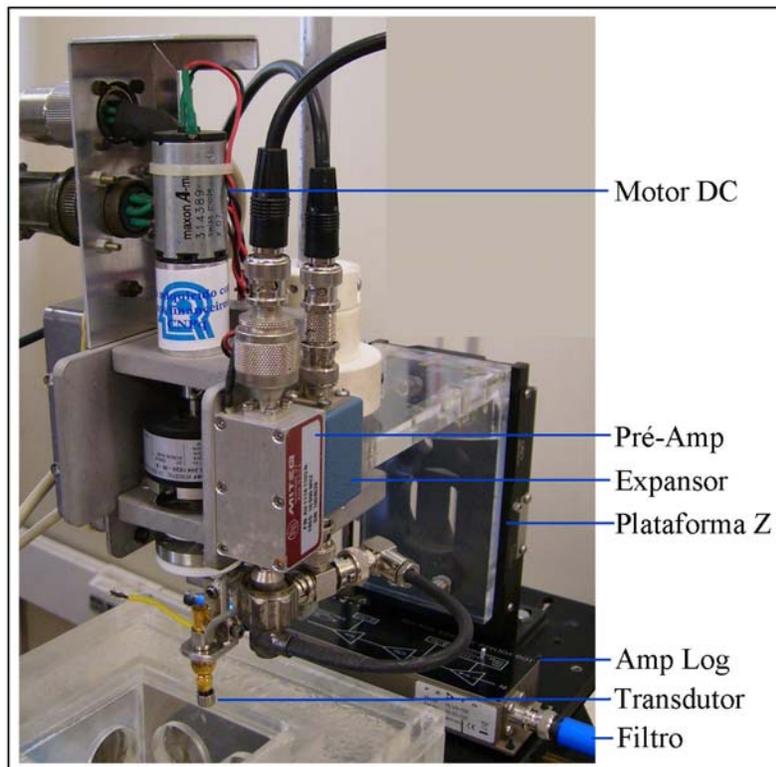


Figura IV.4 – Front end acoplado à plataforma de posicionamento vertical Z.

Ambiente do microcomputador. As envoltórias dos sinais foram digitalizadas por uma placa conversora analógico/digital (NI PCI-5114, National Instruments, Austin, USA), instalada num microcomputador Pentium III, a qual dispõe de uma frequência de

amostragem (F_s) máxima de 250 MHz. A placa está associada a um kit para desenvolvimento de software em linguagem LabVIEW®, utilizado na construção de uma interface de usuário que permite tanto a programação da placa, como a visualização dos resultados através de um monitor acoplado ao computador (Figura IV.5).

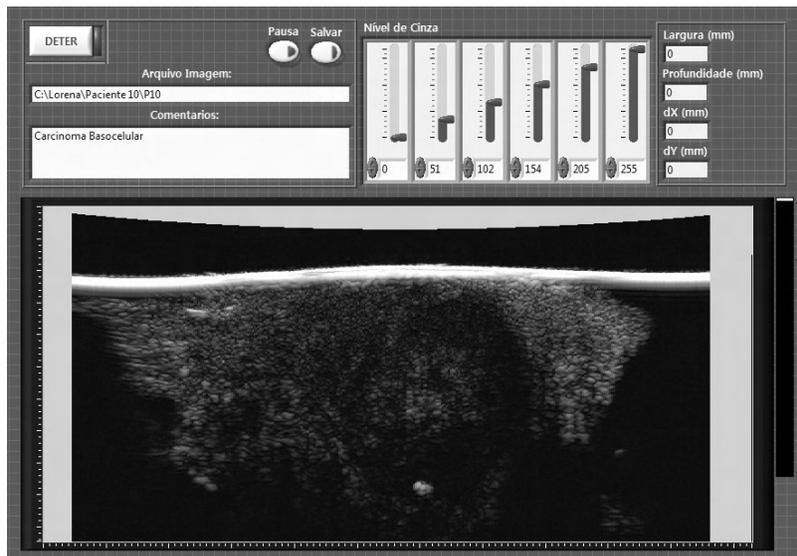


Figura IV.5 – Interface de usuário do sistema de BMU para visualização da imagens modo-B.

4. Estudo qualitativo das imagens.

As variações nos níveis de cinza das imagens obtidas por BMU foram avaliadas, a fim de identificar diversas estruturas presentes nos tecidos, que posteriormente se correlacionaram com as respectivas lâminas de MO.

A fim de facilitar a comparação das imagens obtidas pelas duas técnicas, foram adquiridas duas sequências de planos de imagem por BMU, uma girada 90° em relação à outra, sobre o plano horizontal X-Y (Figura IV.6).

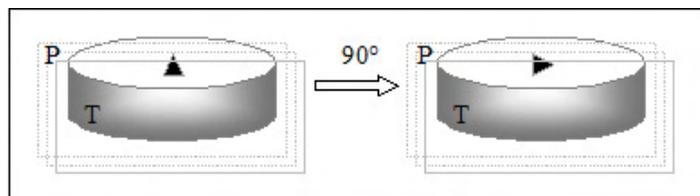


Figura IV.6 – Posicionamento do tecido durante a coleta das duas sequências de imagens (P: plano de imagem; T: tecido).

5. Parâmetros acústicos.

5.1. Programa para aquisição de sinais.

Para o cálculo de parâmetros acústicos foi seguida a metodologia proposta por YE *et al.* (1995), a qual requer a montagem do tecido entre um disco de safira e uma membrana de PVC, como apresentado na Figura IV.3.

A ROI no plano horizontal X-Y sobre a qual foram coletados os sinais, foi escolhida previamente pelas imagens de BMU. A mesma consiste numa matriz de 8x8 pontos, com espaçamentos de 50 μm entre eles, resultando numa área de varredura de 0,35 mm x 0,35 mm (Figura IV.7).

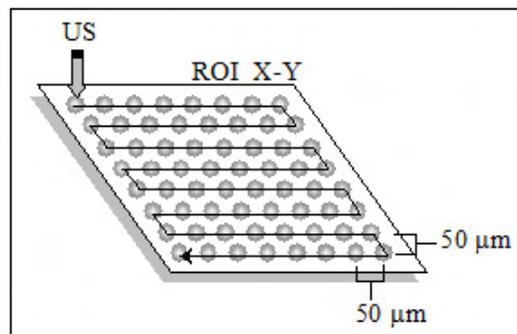


Figura IV.7 – Varredura do transdutor na ROI para aquisição de sinais de RF.

O método utilizado inclui a aquisição de seis grupos diferentes de sinais (ver parágrafos seguintes), com o foco do transdutor localizado em diferentes profundidades da montagem PVC / tecido / safira. Para isto, o transdutor foi mantido em posição vertical (com o feixe perpendicular ao disco de safira), e seu foco foi primeiramente posicionado mediante a plataforma Z. Posteriormente, a varredura ao longo da ROI no plano horizontal foi feita por ajuste manual da plataforma X-Y. Assim, para cada um dos seis grupos foram coletados 64 sinais, um correspondente a cada ponto da ROI.

Os sinais de RF foram adquiridos diretamente na saída do pré-amplificador e digitalizados na placa conversora A/D instalada no microcomputador (sem passar pelo amplificador logarítmico). Cada sinal adquirido consiste numa média de 100 sinais, calculada na placa A/D, a fim de diminuir o nível do ruído, a qual é posteriormente armazenada na memória do computador. Para estas aquisições, foi desenvolvida uma interface de usuário utilizando o software LabVIEW 7.0.

Os seis grupos de sinais adquiridos são descritos a seguir (Figura IV.8):

- Primeiro grupo – sinais AR: correspondem aos ecos refletidos na interface solução salina/safira, quando o pulso atravessa a membrana de PVC, porém, sem atravessar o tecido (matriz de 8 x 8 pontos posicionada fora da ROI). O foco do transdutor se localiza na superfície da safira.
- Segundo grupo - sinais AM: para este grupo o pulso atravessa tanto a membrana de PVC como o tecido (dentro da ROI), e os ecos adquiridos são aqueles refletidos na interface tecido/safira. O foco do transdutor é mantido na mesma posição do grupo AR.
- Terceiro grupo - sinais BM: correspondem aos sinais retroespalhados pelo tecido (dentro da ROI), excluindo os ecos provenientes das interfaces superior (filme de PVC) e inferior (safira), (Anexo II.1). O foco do transdutor se localiza a meia profundidade do tecido.
- Quarto grupo - sinais SM: correspondem aos ecos refletidos na interface solução salina/PVC (dentro da ROI). O foco do transdutor se localiza na membrana de PVC.
- Quinto grupo - sinais SQ: correspondem aos ecos refletidos pela interface tecido/safira, quando o pulso atravessa a membrana de PVC e o tecido (dentro da ROI). O foco do transdutor se localiza na superfície da safira.
- Sexto grupo - sinais SR: correspondem aos ecos refletidos na interface solução salina/safira, quando o pulso não atravessa a membrana de PVC nem o tecido (dentro da ROI, após a remoção da amostra e da membrana). O foco do transdutor se localiza na superfície da safira.

Na Figura IV.9 é apresentada a interface de usuário utilizada durante estas aquisições. Com os comandos disponíveis na parte superior central, é possível a configuração da placa conversora A/D, antes de dar início às aquisições. No quadro superior direito são visualizados os sinais de eco, o qual permite tanto o ajuste da posição do foco do transdutor, como a escolha manual da janela que será adquirida, que por sua vez é visualizada no quadro inferior direito. Os indicadores luminosos no quadro inferior central determinam a etapa em curso, e aqueles no quadro inferior esquerdo os pontos da ROI já percorridos em cada etapa.

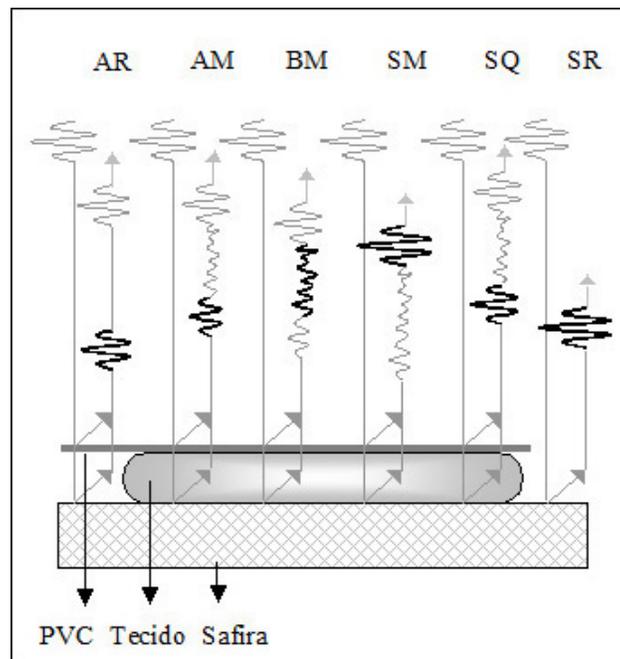


Figura IV.8 – Grupo de sinais adquiridos para o cálculo de parâmetros acústicos. A porção dos sinais em preto indica a janela que é adquirida em cada etapa.

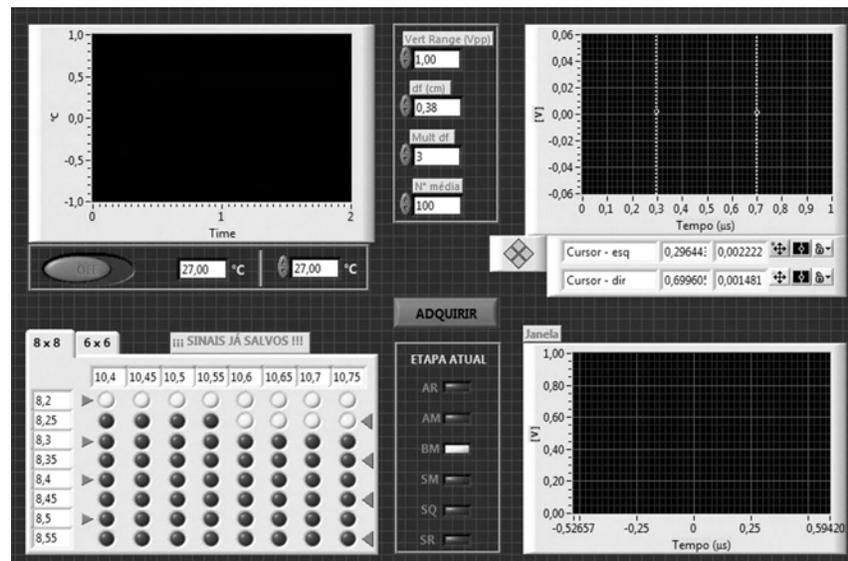


Figura IV.9 – Interface de usuário utilizada na aquisição dos sinais para o cálculo de parâmetros acústicos.

Com o transdutor posicionado em cada ponto da matriz, o comando “ADQUIRIR” era acionado a fim de realizar a captura e armazenamento (na memória do microcomputador) do sinal correspondente. Além do sinal, outras informações

necessárias para os cálculos dos parâmetros são salvas dentro do mesmo arquivo, como: posição do foco do transdutor, F_s , número de pontos amostrados, entre outras.

5.2. Programa para cálculo de parâmetros acústicos.

O cálculo dos parâmetros acústicos incluindo c , α , η , o coeficiente angular de atenuação (η_α), β , η_β e o IBC foram calculados mediante um programa desenvolvido em LabVIEW 7.0 (Figura IV.10), sendo a metodologia descrita a seguir.

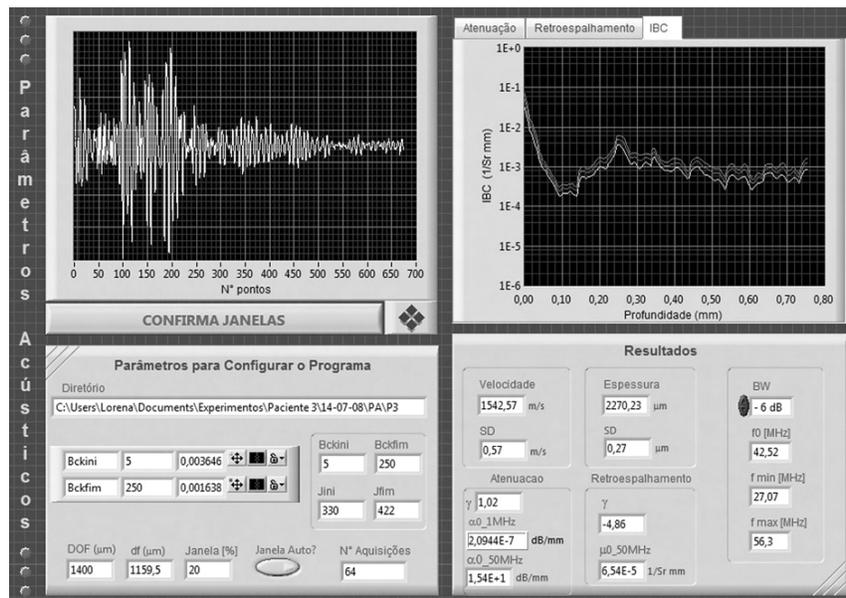


Figura IV.10 – Interface de usuário utilizada no cálculo dos parâmetros acústicos. Quadro superior-esquerdo: apresentação dos sinais BM; quadro superior-direito: curvas de atenuação e retroespalhamento computadas; quadro inferior-esquerdo: comandos para seleção da janela dos sinais BM sobre a qual serão feitos os cálculos; quadro inferior-direito: valores dos parâmetros computados.

Velocidade do US no tecido (c). O primeiro passo consistiu no cálculo da espessura do tecido (x) para cada ponto dentro da ROI. O mesmo foi feito a partir das diferenças entre os tempos de vôo dos sinais SR e SM (t_{SR} e t_{SM} respectivamente), por:

$$x_{xy} = \frac{c_a \cdot (t_{SR} - t_{SM})_{xy}}{2} - x_m \quad (IV.1)$$

Nesta equação c_a é a velocidade do US na água (estabelecida em $1530 \text{ [m}\cdot\text{s}^{-1}\text{]}$), e x_m representa a espessura da membrana de PVC ($9 \mu\text{m}$). Posteriormente, foi calculada a

velocidade em cada ponto (c_{xy}), a partir das diferenças entre os tempos de vôo dos respectivos sinais SQ e SR (t_{SQ} e t_{SR}), e utilizando os valores de x_{xy} obtidos previamente:

$$c_{xy} = \frac{x_{xy}}{\frac{x_{xy} + x_m}{c_a} - \frac{x_m}{v_m} + \frac{(t_{SQ} - t_{SR})_{xy}}{2}}, \quad (IV.2)$$

sendo v_m a velocidade do US na membrana de PVC ($1900 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$). Finalmente, o valor de c próprio do tecido foi calculado como a média dos 64 valores obtidos, para cada ponto dentro da ROI.

Coefficiente de atenuação e sua relação com a frequência (α , η e η_a). O valor de α [$\text{dB}\cdot\text{mm}^{-1}$] foi calculado a partir das amplitudes dos espectros dos sinais AM e AR ($|AM_{xy}(f)|$ e $|AR_{xy}(f)|$, respectivamente) adquiridos em cada ponto da ROI:

$$\alpha_{xy}(f) = -\frac{20}{2 \cdot x_{xy}} \cdot \log_{10} \frac{|AM_{xy}(f)|}{|AR_{xy}(f)|}. \quad (IV.3)$$

A seguir foi obtida a média (\pm erro padrão) dos 64 valores computados, que corresponde com o valor de α próprio do tecido (Figura IV.11). Posteriormente, foi feito um ajuste linear da curva que relaciona $\log(\alpha)$ com $\log(f)$, para f variando dentro da BW de -6 dB (Anexo II.2). Da reta resultante foi aplicado o antilogaritmo, dando uma curva da qual se obteve o parâmetro η pela equação (II.7), assim como os valores de α para 50 MHz (α_{50}) e para 1 MHz (α_0 , valor da ordenada na origem do eixo horizontal). Finalmente, foi calculado o coeficiente angular (η_a) da curva, como a razão entre a faixa de valores de α e de f dentro da BW.

Coefficiente de retroespalhamento e sua dependência em frequência (β e η_β). Para o cálculo do β utilizou-se o grupo de sinais BM, os quais foram primeiro compensados do efeito da atenuação. Para isto os sinais foram segmentados (128 amostras/segmento, com deslocamento de 32 amostras entre segmentos sucessivos), e calculada a

transformada de Fourier (TF) de cada segmento. A compensação do efeito de atenuação para cada segmento foi realizada de acordo com (YE *et al.*, 1995):

$$\alpha_i(f) = \frac{\alpha_0}{8,68} \cdot f^\eta \cdot 2 \cdot d_i, \quad (IV.4)$$

$$BM_i(f) = BM'_i(f) \cdot e^{\alpha_i(f)}, \quad (IV.5)$$

sendo d_i a distância percorrida pela onda acústica até o centro de cada segmento, e $BM'_i(f)$ e $BM_i(f)$ os espectros sem compensar e compensados respectivamente. A seguir, foi aplicada a TF inversa, e o sinal foi reconstruído a partir dos pontos centrais de cada segmento compensado (32 pontos).

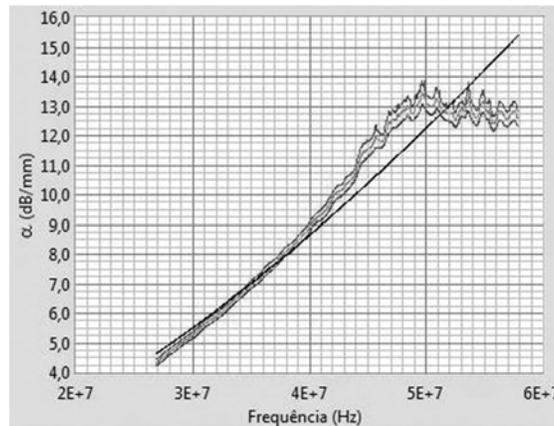


Figura IV.11 – Valores de α dentro da BW (média \pm coeficiente de variação), e curva obtida a partir do antilogaritmo da relação: $\log(\alpha)$ com $\log(f)$.

Posteriormente, o valor de β para cada ponto da ROI foi calculado a partir do espectro de potência dos sinais compensados ($|BM_{xy}(f)|^2$), janelados numa DOF que varia segundo as características particulares do tecido, como:

$$\beta_{xy}(f) = \frac{R_q}{2 \cdot \pi \cdot (1 - \cos(\theta))} \cdot \frac{|BM_{xy}(f)|^2}{|AR_{xy}(f)|^2} \cdot \frac{1}{D}, \quad (IV.6)$$

sendo ($|AR_{xy}(f)|^2$) o espectro de potência dos sinais de referência AR, θ o ângulo de abertura do feixe no foco ($6^\circ 44'$), R_q o coeficiente de reflexão na interface solução

salina/safira (0,631), e D a profundidade da janela escolhida dentro do sinal BM. Posteriormente, o $\beta(f)$ médio do tecido foi calculado a partir dos 64 sinais obtidos em cada ponto da ROI.

Finalmente, com a curva resultante realizou-se um ajuste linear da relação $\log(\beta)$ com $\log(f)$, sendo daqui obtidos o valor de β para 50 MHz, e o valor de η_β como a inclinação da reta.

Coeficiente de retroespalhamento integrado (IBC). O cálculo do IBC foi feito utilizando a relação dada na equação (II.9). Aqui os sinais retroespalhados (V_S) correspondem às envoltórias dos sinais BM (compensados dos efeitos da atenuação, como descrito anteriormente), e os sinais de referência (V_{ref}) correspondem com as envoltórias dos sinais AR. Por sua vez, $D_S(d, \omega)$ é calculada segundo a equação (II.10).

Finalmente, a curva que representa o IBC do tecido é calculada como a média entre as 64 curvas obtidas para cada ponto da ROI.

6. Parâmetros estatísticos.

6.1. Programa para aquisição de sinais.

A interface utilizada na aquisição dos sinais de RF, destinados ao cálculo de parâmetros estatísticos, foi desenvolvida com o software LabVIEW 7.0 (Figura IV.12). Para estas aquisições, a amostra de tecido foi montada sobre o disco de safira e coberta por uma membrana de PVC, como descrito anteriormente (Figura IV.3).

A trajetória do transdutor na qual foram coletados os sinais, foi previamente escolhida mediante as imagens modo-B. A mesma consistiu em 64 pontos de coleta ao longo do eixo X, com espaçamentos de 50 μm entre sucessivos pontos (Figura IV.13), resultando numa distância total de 3,4 mm (algumas amostras apresentaram uma largura inferior a este valor, em cujos casos o número de sinais coletados deveu ser menor).

Para o cálculo de parâmetros estatísticos foram adquiridos dois grupos de sinais ao longo da mesma trajetória, porém, com o foco do transdutor localizado em duas profundidades diferentes dentro da espessura do tecido. Nos dois casos os sinais adquiridos corresponderam aos sinais retroespalhados em toda a espessura do tecido (sem conter os ecos refletidos nas interfaces PVC/tecido ou tecido/safira).

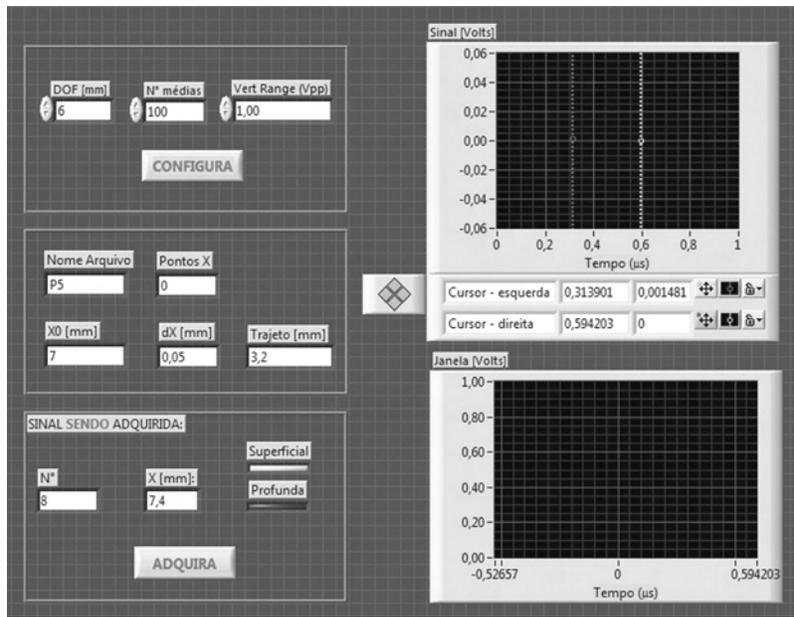


Figura IV.12 – Interface de usuário utilizada na aquisição de sinais para o cálculo de parâmetros estatísticos. Quadro superior-direito: permite visualizar o sinal retroespalhado; quadro inferior-esquerdo: permite visualizar a janela do sinal sendo adquirida; quadro superior-esquerdo: permite configurar a placa A/D; quadro inferior esquerdo: permite salvar os sinais mediante o comando “ADQUIRA” e indica a etapa em curso, assim como a posição atual do transdutor ao longo do eixo X.

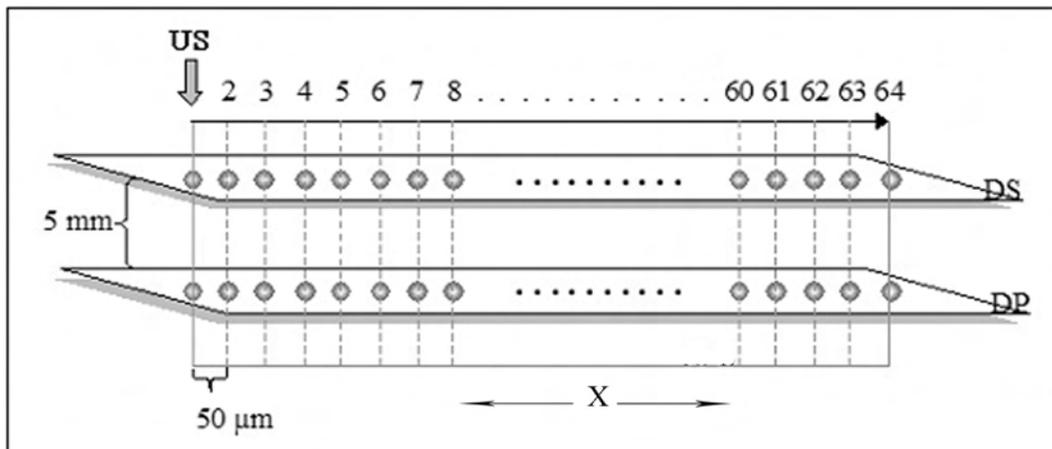


Figura IV.13- Pontos de coleta ao longo da trajetória do transdutor durante a aquisição dos sinais utilizados no cálculo dos parâmetros estatísticos.

Para o primeiro grupo, o transdutor foi focalizado na porção superficial da derme, aproximadamente a 0,5 mm por abaixo da epiderme (sinais DS, derme superficial). Já no segundo grupo, o transdutor foi focalizado na porção mais profunda da derme, aproximadamente a 1,0 mm por abaixo da epiderme (sinais DP, derme profunda). As profundidades do foco escolhidas, tanto para os sinais DS como DP,

podem ser ligeiramente diferentes, dependendo das características específicas do tecido (em poucos casos a espessura da amostra foi muito pequena, e nestas situações adquiriu-se um único grupo de sinais).

Assim, o transdutor foi mantido em posição vertical (com a direção do feixe perpendicular ao disco de safira), e a posição do foco dentro da amostra foi primeiramente ajustada através da plataforma de posicionamento em Z. A seguir, a varredura no eixo X foi realizada mediante ajustes na plataforma de posicionamento horizontal.

Os sinais foram adquiridos diretamente na saída do pré-amplificador e digitalizados na placa A/D instalada no microcomputador, sem passar pelo amplificador logarítmico. Cada sinal adquirido consiste em uma média de 100 sinais, computada na placa A/D, a fim de diminuir os efeitos do ruído.

6.2. Programa para o cálculo de parâmetros estatísticos.

Previamente ao cálculo dos parâmetros estatísticos, os sinais retroespalhados foram compensados dos efeitos de atenuação (de forma semelhante ao descrito no cálculo de parâmetros acústicos), tiveram suas envoltórias calculadas (mediante a transformada de Hilbert) e foram compensados dos efeitos de difração do feixe de US (equação II.10). Estas etapas foram realizadas mediante um programa desenvolvido com o software LabVIEW 7.0.

Posteriormente, com as sucessivas envoltórias compensadas foram reconstruídos dois quadros (pseudo-imagens), um para os sinais DS e outro para os sinais DP. A fim de obter os parâmetros representativos do tecido, foi escolhido para os cálculos subsequentes o quadro onde o foco do transdutor ficou dentro da região mais afetada pelo tumor. Posteriormente, dentro deste quadro foi demarcada a ROI no plano X-Z (Figura IV.14), sendo as amplitudes dos pixels utilizadas na reconstrução do histograma (Item II.5).

Previamente aos cálculos correspondentes, a ROI escolhida é amostrada, de tal forma que a separação mínima entre sucessivos pixels no sentido axial, corresponda a um valor igual ou superior a $R_{ax}/2$, e no sentido lateral a um valor igual ou superior a $R_{lat}/2$ (RAJU *et al.*, 2003). Estas duas condições foram impostas devido à correlação que existe entre pixels adjacentes. Na prática, isto resulta numa amostragem no sentido axial de 1 em 4 amostras, considerando que na digitalização dos sinais foi utilizada uma F_s de

250 MHz, com a R_{ax} dada na Tabela IV.1. No sentido lateral corresponde com uma amostragem de 1 em 1 amostra (sem amostragem), considerando que o espaçamento entre sucessivos sinais foi de $50 \mu\text{m}$, com a R_{lat} dada na Tabela IV.1. Com os pontos resultantes foi construído um histograma, ao qual se ajustaram as curvas de PDF para os diferentes modelos estudados.

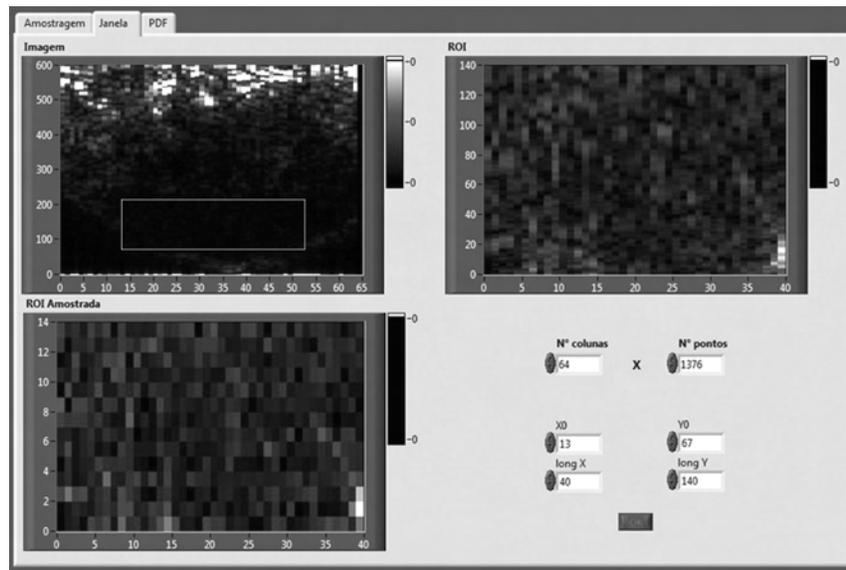


Figura IV.14 – Painel da interface de usuário, para seleção da ROI. Quadro superior-esquerdo: quadro de imagem completo demarcando a ROI (retângulo branco); quadro superior-direito: ROI escolhida; quadro inferior-esquerdo: ROI amostrada.

Relação sinal/ruído (SNR): este parâmetro foi obtido diretamente das amplitudes das envoltórias, aplicando a equação (II.11).

Parâmetros da distribuição Nakagami (m_N e Ω_N): o cálculo destes parâmetros realizou-se a partir dos valores utilizados na construção do histograma, mediante as equações (II.13) e (II.14) respectivamente. Posteriormente, foi aplicada a equação (II.12) para construção da curva PDF-Nakagami.

Parâmetros da distribuição Weibull (a_w e b_w): estes parâmetros foram calculados utilizando o método de ML, como descrito no Capítulo II, mediante as equações (II.17) e (II.18). Posteriormente, a curva PDF-Weibull que melhor se ajusta às características do histograma, obteve-se pela equação (II.16).

Parâmetros da distribuição Gamma Generalizada (c_{GG} , v_{GG} e a_{GG}): estes parâmetros foram também calculados utilizando o método de ML, como descrito no Capítulo II, utilizando as equações (II.20) a (II.22). Posteriormente a curva PDF-GG que melhor ajustou às características do histograma, foi obtida mediante a equação (II.19).

Finalmente, tanto os parâmetros computados, como o histograma e as curvas das PDF resultantes (Anexo II.3), são observados na interface de usuário, apresentada na Figura IV.15.

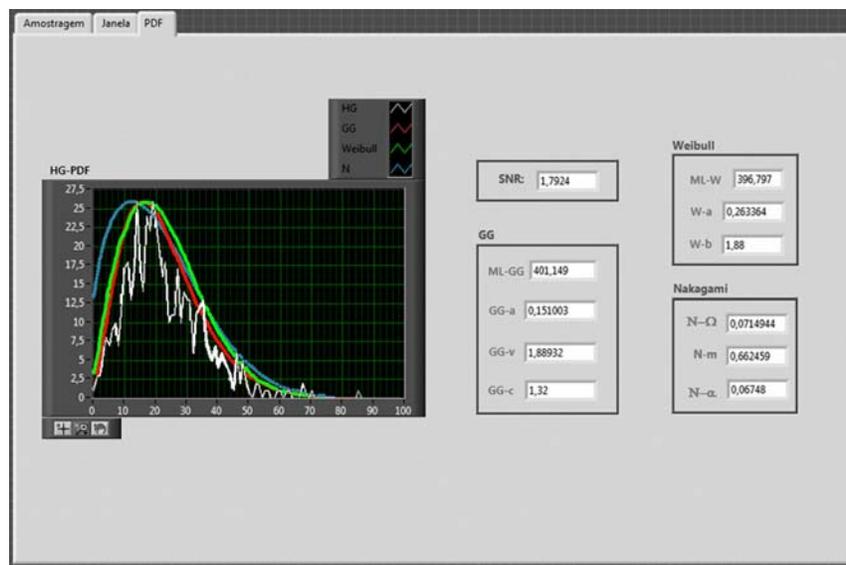


Figura IV.15 – Painel da interface de usuário para visualização dos resultados da análise estatística. Lado esquerdo: curvas de PDF de Nakagami (azul), Weibull (verde) e GG (vermelha) ajustadas ao histograma (branco). Lado direito: parâmetros estatísticos, obtidos para cada PDF.

Capítulo V: Resultados

1. Imagens de BMU.

A seguir são apresentados os aspectos qualitativos característicos observados nas imagens cutâneas de BMU, tanto para tecido sem tumor quanto para os diversos subtipos de carcinomas estudados.

Tecido Sadio: nas imagens obtidas por BMU podem ser identificadas as três camadas presentes na pele. A derme observa-se como uma região ecóica relativamente homogênea, com espessuras que variam dependendo da região do corpo e das características do paciente; a epiderme é visualizada como uma linha hiperecóica na parte superior; a hipoderme por sua vez, apresenta características hipoecóicas, observando-se uma união irregular desta com a derme (Figura V.1).

Anexos cutâneos são muitas vezes diferenciados nas imagens de BMU. As glândulas se apresentam como estruturas hipoecóicas de margens não bem definidas; folículos pilosos são visualizados como estruturas ovais de ecogenicidade heterogênea. Outros anexos como capilares e estruturas nervosas não são diferenciados, devido às limitações na resolução atingida nestas imagens.

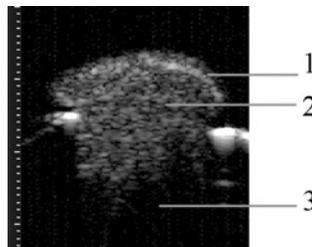


Figura V.1 – Imagem de tecido cutâneo sadio obtida por BMU. 1: epiderme, 2: derme, 3: hipoderme. Escala: 0,1 mm.

CBC Superficial: para este subtipo de carcinoma (grupo S, Tabela V.1) as imagens de BMU revelam uma característica hiperecóica e espessada da epidermis, nas regiões onde existe crescimento de massas tumorais (Figura V.2). Por sua vez, na derme papilar é visualizada uma banda hipoecóica, atribuída à presença de infiltrado inflamatório ou estroma, característico nestas lesões.

CBC Nodular: para este subtipo de carcinoma se apresentam diversas variantes. Quando as massas tumorais são de tamanho reduzido (grupo N1, Tabela V.1), elas não podem ser diferenciadas do tecido adjacente nas imagens de BMU, devido às limitações na resolução do sistema (Figura V.3). Isto gera um aspecto heterogêneo na derme, devido à presença tanto do tumor, como de outros componentes a ele associados (infiltrado inflamatório e estroma).

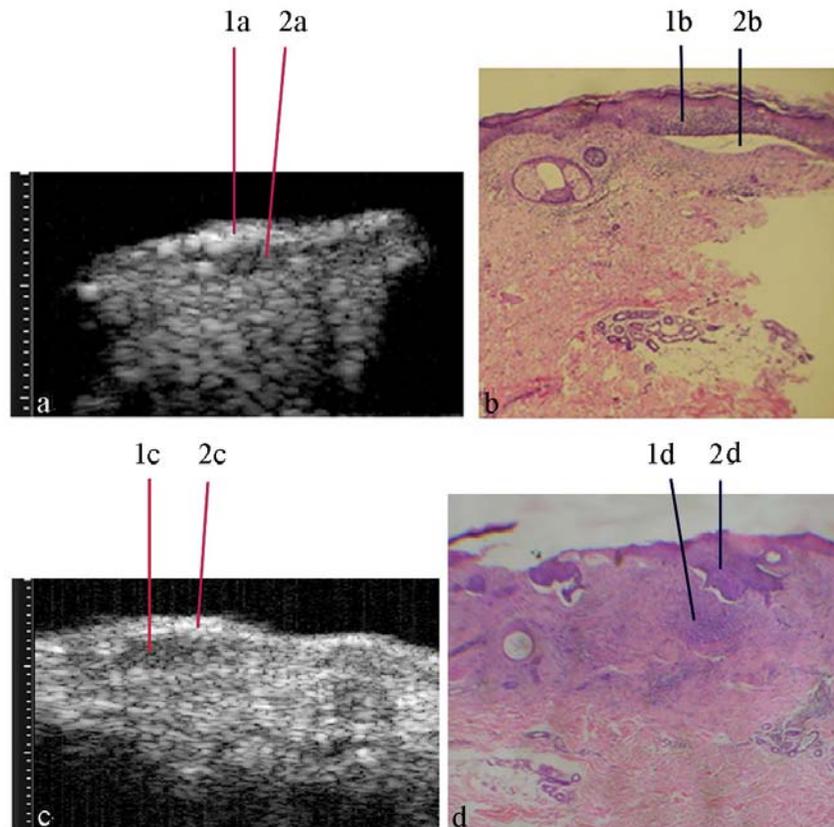


Figura V.2 – Imagens de CBC superficial obtidas de duas amostras de tecido. Caso 1: imagens de BMU (a) e MO (b). 1 (a, b): epiderme com crescimento de massa tumoral; 2 (a, b): estroma. Caso 2: imagens de BMU (c) e MO (d). 1 (c, d): infiltrado inflamatório; 2 (c, d): massa tumoral aderida à epiderme. As imagens de BMU e MO apresentadas para cada caso correspondem à mesma lesão, porém a regiões diferentes dentro da mesma (item IV.1 e 2). Escala de BMU: 0,1 mm.

Em outros casos, as massas tumorais ocupam a maior parte da derme (grupo N2, Tabela V.1), sendo possível delimitar as mesmas do tecido adjacente nas imagens de BMU. Aqui, as massas tumorais apresentam aspecto hipoeecóico ou ecogenicidade heterogênea, e frequentemente é visualizada uma borda opaca rodeando as mesmas (Figura V.4).

Em alguns casos de CBC nodular, os tumores se apresentam com ulceração (grupo N3, Tabela V.1), sendo as hemácias visualizadas como regiões hiperecóicas nas imagens de BMU. Já as massas tumorais, assim como o estroma associado, são evidenciados como estruturas hipocóicas (Figura V.5).

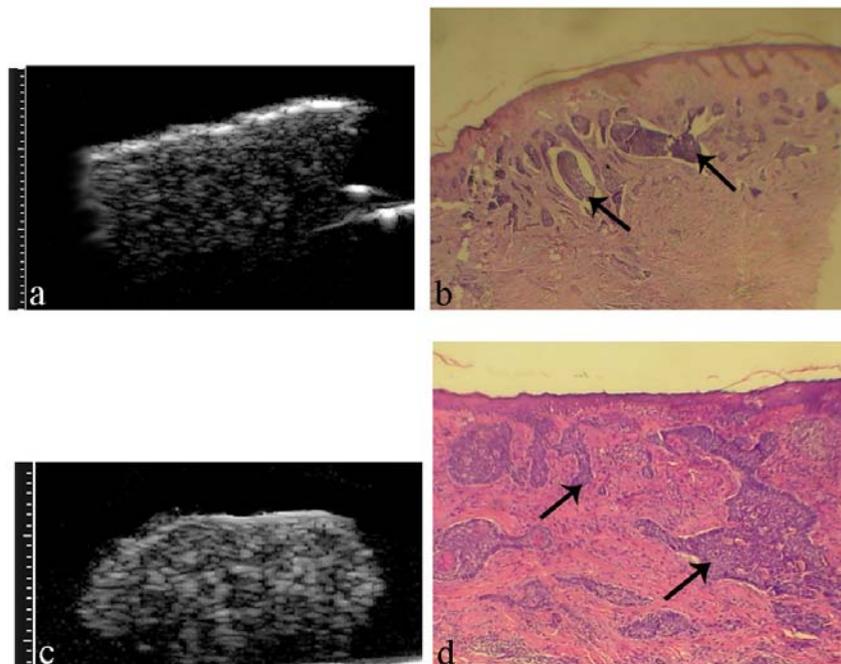


Figura V.3 – Imagens de CBC N1 obtidas de duas amostras de tecido. Caso 1: imagens de BMU (a) e MO (b). Caso 2: imagens de BMU (c) e MO (d). As setas nas imagens de MO indicam as massas tumorais, não identificadas nas imagens de BMU. As imagens de BMU e MO apresentadas para cada caso correspondem à mesma lesão, porém, a regiões diferentes dentro das mesmas (item IV.1 e 2). Escala de BMU: 0,1 mm.

CBC Infiltrativo: neste subtipo de CBC (grupo I, Tabela V.1), as células tumorais distribuídas em finas cordas ou fitas, apresentam espessuras insuficientes para serem identificadas mediante imagens de BMU, devido às limitações na resolução do sistema. A região afetada possui tanto células tumorais como infiltrado inflamatório, que em conjunto proporcionam um aspecto hipocóico nestas imagens (Figura V.6).

CBC Morfêico: no único caso observado para este subtipo de carcinoma, as massas tumorais não foram bem identificadas nas imagens de BMU, devido a suas reduzidas espessuras. O aspecto geral da derme foi ligeiramente mais ecóico que o observado em outros casos de CBC, o qual pode ser atribuído à alta densidade do estroma fibroso, característico deste tipo de lesão (Figura V.7).

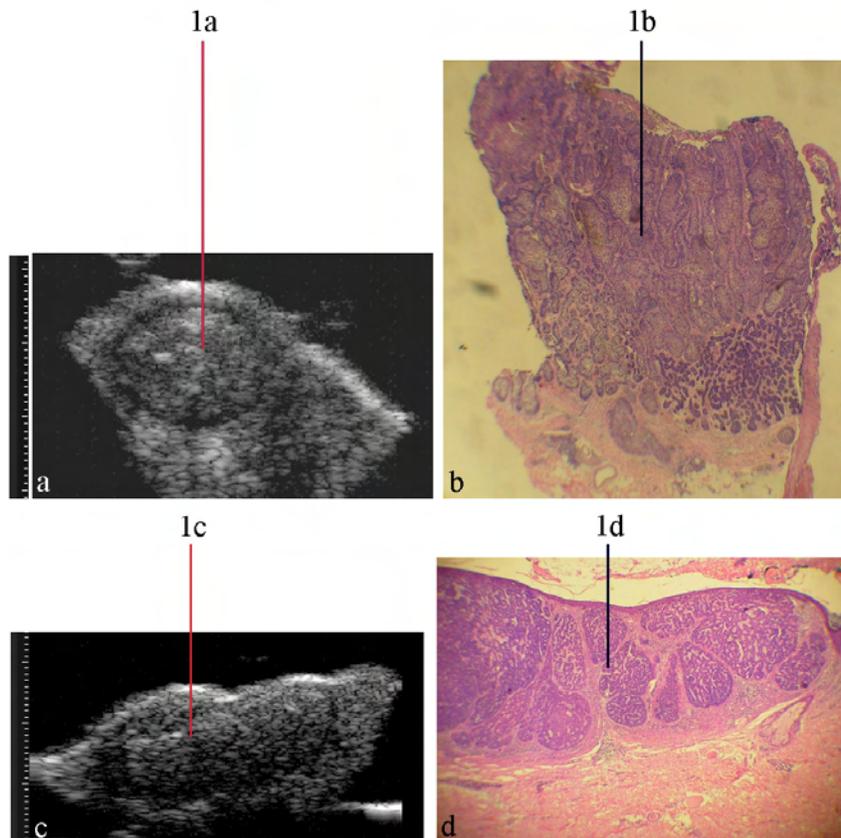


Figura V.4 - Imagens de CBC N2 obtidas de duas amostras de tecido. Caso 1: imagens de BMU (a) e MO (b). Caso 2: imagens de BMU (c) e MO (d). 1 (a, b, c, d): região ocupada pelo tumor. As imagens de BMU e MO apresentadas para cada caso correspondem à mesma lesão, porém, a regiões diferentes dentro da mesma (item IV.1 e 2). Escala de BMU: 0,1 mm.

CBC Diferenciado – Adenóide: na imagem de BMU obtida para este subtipo de carcinoma (único caso) a derme apresentou ecogenicidade marcadamente heterogênea; porém, as massas tumorais não podem ser delimitadas (Figura V.8), sendo possivelmente aquelas regiões mais opacas relacionadas à presença de tumor e material amorfo (estroma).

CBC Basoescamoso: no único caso analisado para este subtipo de carcinoma, as regiões afetadas pelo tumor apresentaram uma característica hipocóica e heterogênea nas imagens de BMU, devido à presença tanto de massas tumorais como de estroma (Figura V.9).

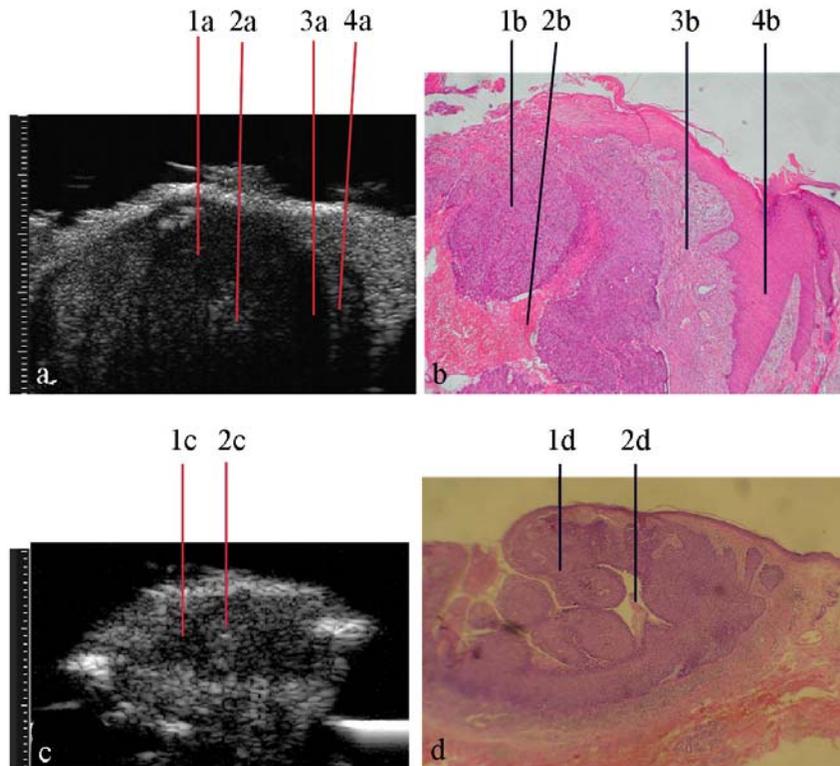


Figura V.5 - Imagens de CBC N3 obtidas de duas amostras de tecido. **Caso 1:** imagens de BMU (a) e MO (b). 1 (a, b): massa tumoral; 2 (a, b): hemácias; 3 (a, b): estroma; 4 (a, b) crescimento da epiderme dentro da derme. **Caso 2:** imagens de BMU (c) e MO (d). 1 (c, d): massa tumoral; 2 (c, d): hemácias. As imagens de BMU e MO apresentadas para cada caso correspondem à mesma lesão, porém, a regiões diferentes dentro da mesma (item IV.1 e 2). Escala de BMU: 0,1 mm.

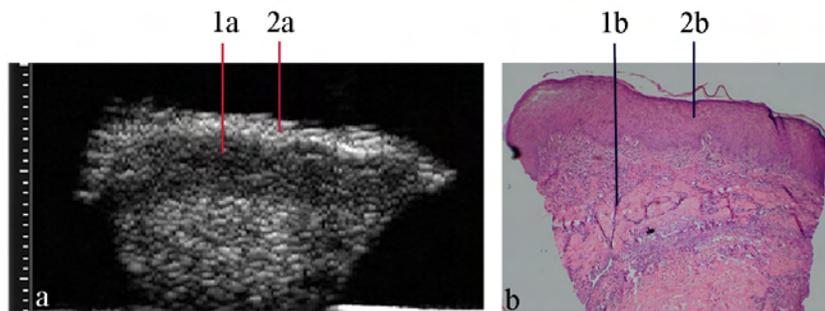


Figura V.6 - Imagens de CBC I obtidas por BMU (a) e MO (b). 1 (a, b): região afetada pelo tumor, com presença de finos fios de células tumorais e infiltrado inflamatório; 2 (a, b): epiderme engrossada. As imagens de BMU e MO apresentadas para cada caso correspondem à mesma lesão, porém, a regiões diferentes dentro da mesma (item IV.1 e 2). Escala de BMU: 0,1 mm.

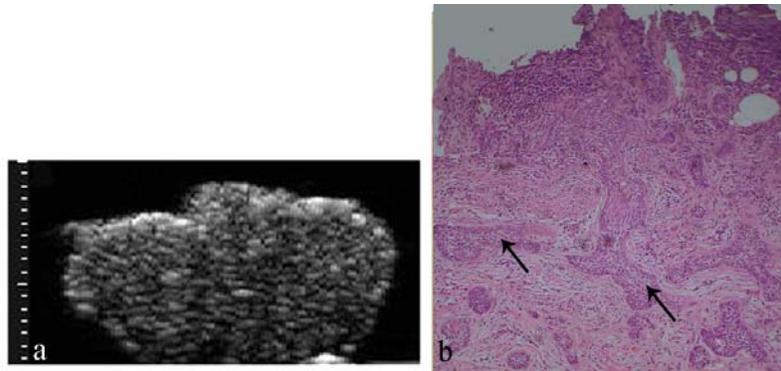


Figura V.7 – Imagens de CBC Morfêico obtidas por BMU (a) e MO (b). Setas: massas tumorais não identificadas nas imagens de BMU. As imagens de BMU e MO apresentadas correspondem à mesma lesão, porém, a regiões diferentes dentro das mesmas (item IV.1 e 2). Escala de BMU: 0,1 mm.

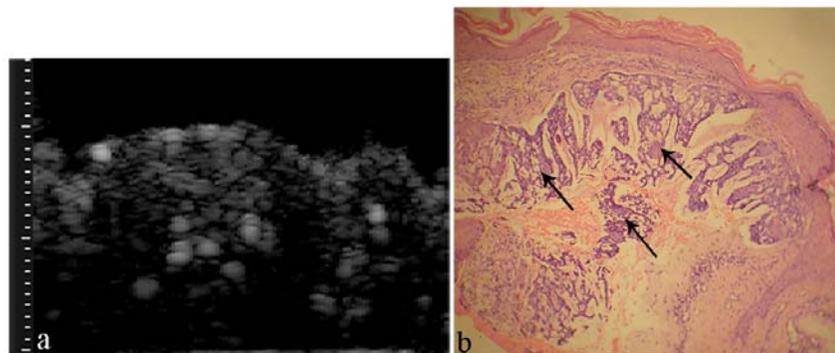


Figura V.8 – Imagens de CBC adenóide, obtidas por BMU (a) e MO (b). Setas: massas tumorais. As imagens de BMU e MO apresentadas correspondem à mesma lesão, porém, a regiões diferentes dentro das mesmas (item IV.1 e 2). Escala de BMU: 0,1 mm.

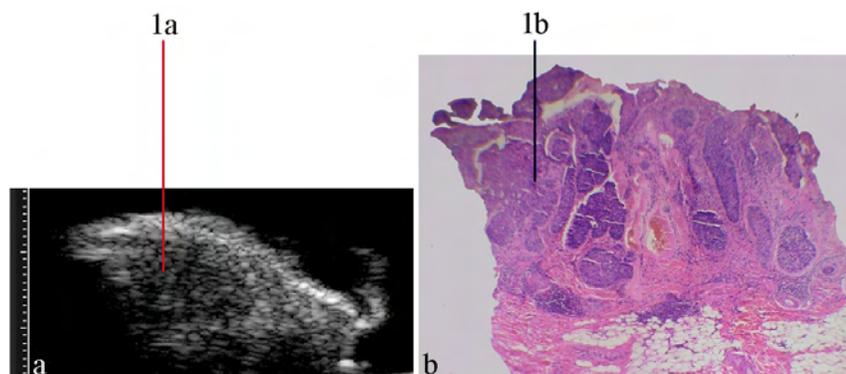


Figura V.9 – Imagens de CBC basoescamoso obtidas por BMU (a) e MO (b). 1 (a, b): região ocupada por massas tumorais. As imagens de BMU e MO apresentadas correspondem à mesma lesão, porém, a regiões diferentes dentro das mesmas (item IV.1 e 2). Escala de BMU: 0,1 mm.

CEC: foram observados três casos para este tipo de carcinoma (grupo CEC, Tabela V.1); em um deles, a região afetada pelo crescimento tumoral apresentou-se

ecóica nas imagens de BMU (Figura V.10.a); nos dois casos restantes, as massas tumorais foram visualizadas como regiões hipoeecóicas (Figura V.10.c). Estas diferenças podem ser devidas a variações nas características das células para cada tumor, como o grau de ceratinização, os tamanhos dos núcleos celulares, entre outras.

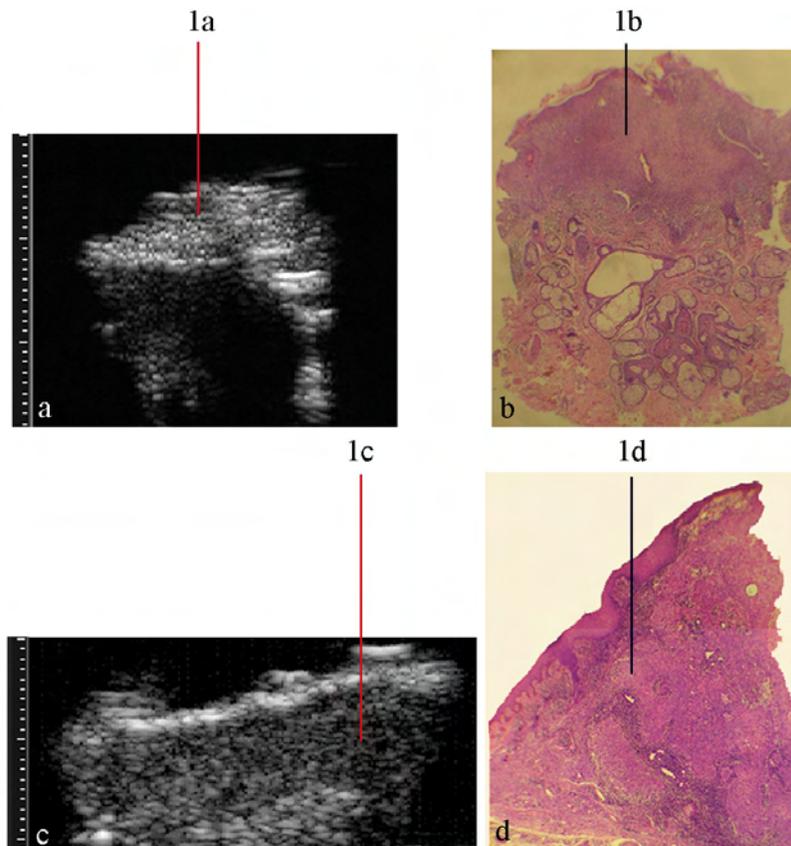


Figura V.10 – Imagens de CEC obtidas de duas amostras de tecido. Caso 1: imagem de BMU (a) e MO (b). Caso 2: imagem de BMU (c) e MO (d). 1 (a, b, c, d): massa tumoral. As imagens de BMU e MO apresentadas para cada caso correspondem à mesma lesão, porém, a regiões diferentes dentro das mesmas (item IV.1 e 2). Escala de BMU: 0,1 mm.

Doença de Bowen: os aspectos típicos destes tumores (grupo DB, Tabela V.1) foram bem identificadas nas imagens obtidas por BMU. A espessura incrementada da epiderme, com crescimento atípico das crestas epidérmicas, foi identificada como uma região hipoeecóica com bordas relativamente bem definidas (Figura V.11); enquanto a camada córnea apresentou-se espessada e ecóica.

Ceratose Actínica: as alterações nas fibras de colágeno próprias destas lesões (grupo CA, Tabela V.1) foram observadas nas imagens de BMU com níveis de

ecogenicidade reduzidos, apresentando uma característica relativamente homogênea em toda a região afetada (Figura V.12).

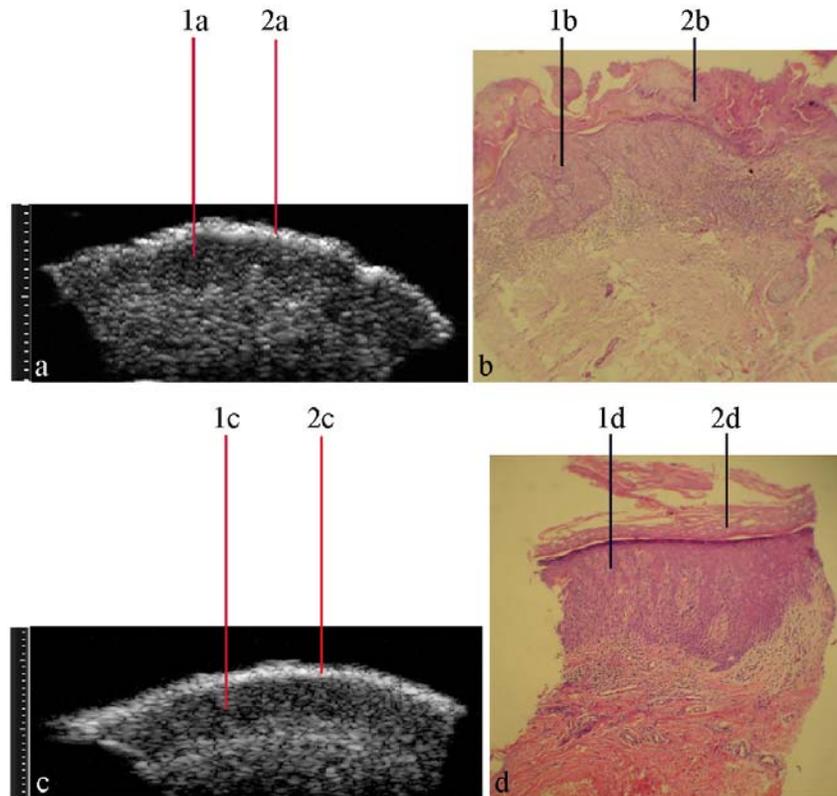


Figura V.11 – Imagens de DB obtidas de duas amostras de tecido. **Caso 1:** imagem de BMU (a) e MO (b). **Caso 2:** imagem de BMU (c) e MO (d). 1 (a,b,c,d): epiderme com crescimento atípico; 2 (a, b, c, d): camada córnea engrossada. As imagens de BMU e MO apresentadas para cada caso correspondem à mesma lesão, porém, a regiões diferentes dentro da mesma (item IV.1 e 2). Escala de BMU: 0,1 mm.

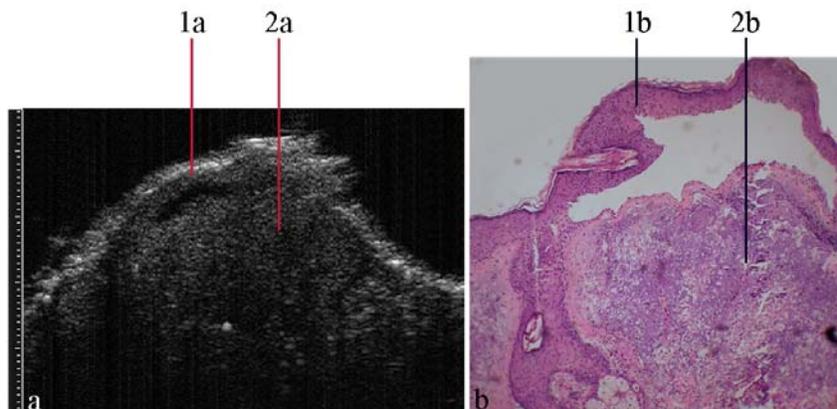


Figura V.12 – Imagens de CA obtidas por BMU (a) e MO (b). 1 (a, b): epiderme; 2 (a, b): região dérmica afetada. As imagens de BMU e MO apresentadas correspondem à mesma lesão, porém, a regiões diferentes dentro da mesma (item IV.1 e 2). Escala de BMU: 0,1 mm.

2. Parâmetros quantitativos.

Das 57 amostras de carcinomas cutâneos obtidas, uma parte foi excluída do estudo de parâmetros quantitativos por diversos motivos, tais como: o tamanho reduzido da amostra impossibilitou a aquisição de sinais de RF; a constatação, depois de feitas as aquisições de sinais, de imprecisões no posicionamento do foco do transdutor; a existência de uma única amostra para alguns subtipos de carcinoma; a dificuldade para correlacionar as imagens obtidas por BMU e MO; entre outros. Os valores dos parâmetros quantitativos obtidos para cada amostra (incluindo aqueles não utilizados na análise dos resultados) são apresentados no Anexo I.1. Os grupos de carcinomas cutâneos estudados, assim como o número de amostras dentro de cada grupo são apresentados na Tabela V.1.

Tabela V.1 – Grupos de tecidos utilizados na avaliação de parâmetros quantitativos.

TIPO TECIDO	SUB-TIPO DE TUMOR	N ^o AMOSTRAS	SÍMBOLO
CBC Superficial	--	5	S
CBC Nodular	Pequenas massas tumorais dispersas na derme	11	N1
CBC Nodular	Massa tumoral compacta ocupando a maior parte da espessura dérmica	8	N2
CBC Nodular	Com ulceração	4	N3
CBC Infiltrativo	--	3	I
CEC	Diferenciado e moderadamente diferenciado	3	CEC
Doença de Bowen	--	3	DB
Ceratose Actínica	--	3	CA
Sem Tumor	--	4	ST

2.1. Parâmetros acústicos.

Os parâmetros acústicos avaliados foram: c , α_{50} , η_a e IBC. Os três primeiros parâmetros foram analisados de duas formas diferentes. Uma primeira análise consistiu na observação dos valores obtidos para cada grupo de tecido (Tabela V.1), e na obtenção da média para cada um destes grupos.

Quatro amostras de tecido carcinomatoso foram extraídas com uma borda de pele sem tumor (item IV.1.2). Para estas amostras, foram adquiridos sinais tanto na

região contendo tumor (CT ou com tumor) como na borda (ST ou sem tumor), e os respectivos parâmetros foram calculados. Assim, o segundo tipo de análise consiste numa comparação pareada entre os parâmetros obtidos em cada amostra, para as regiões CT e ST. Estes casos, apresentados como 1, 2, 3 e 4, correspondem a amostras incluídas também na Tabela V.1; as quatro amostras CT pertencem aos grupos N3, S, CEC (moderadamente diferenciado) e CEC (diferenciado), respectivamente; as amostras ST são aquelas incluídas na última linha da Tabela V.1.

Velocidade (c): na Figura V.13 são apresentados os valores de c obtidos para cada grupo de tecido. O menor valor médio foi obtido para o grupo I, o qual por sua vez apresenta valores numa faixa inferior que a dos grupos N3, CEC, DB, CA e ST. Nos grupos restantes foram observados valores dentro das mesmas faixas, não sendo evidenciada nenhuma tendência entre eles.

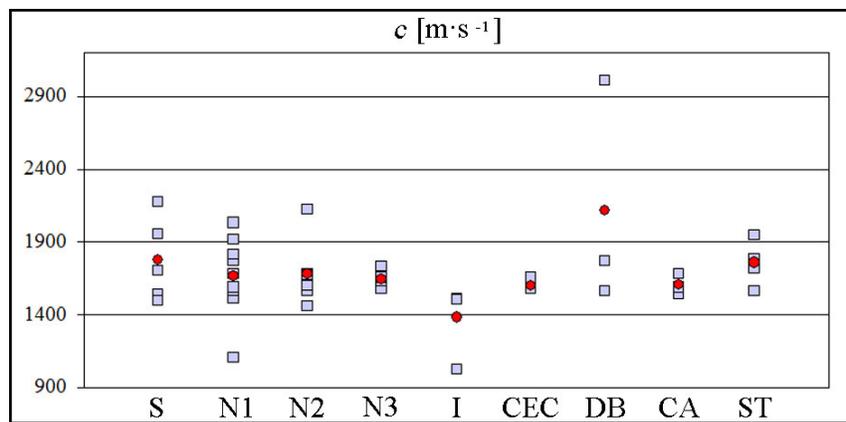


Figura V.13 – Valores de c [m·s⁻¹] e médias (pontos vermelhos) computados para cada grupo de amostras.

Quando foi realizada uma avaliação pareada de c (Figura V.14), observaram-se valores maiores nas regiões ST para três dos quatro casos estudados (1, 2 e 4), enquanto que para o caso restante (3), o valor foi praticamente o mesmo para as regiões ST e CT.

Coeficiente de atenuação em 50 MHz (α_{50}): dos resultados apresentados na Figura V.15, o maior valor médio foi observado para o grupo S, enquanto o menor correspondeu ao grupo N2; porém, as faixas de valores abrangidas por estes dois grupos se superpõem. Por sua vez, os valores obtidos para o grupo I se encontram dentro de

uma faixa diferente (superior) àquela de grupo CA. Entre os grupos restantes não foram observadas separações.

Quando é feita uma comparação pareada de α_{50} (Figura V.16), dois dos quatro casos estudados apresentaram valores maiores para tecido ST (casos 1 e 2), enquanto dois o fizeram para o tecido CT (casos 3 e 4), não evidenciando uma tendência.

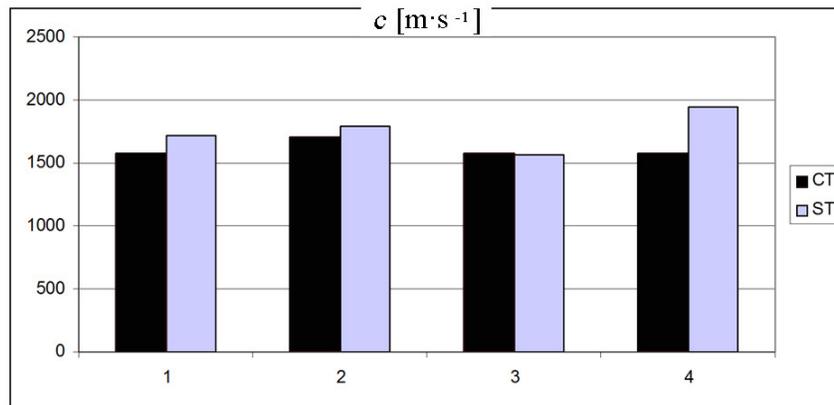


Figura V.14 – Avaliação pareada de c [m·s⁻¹].

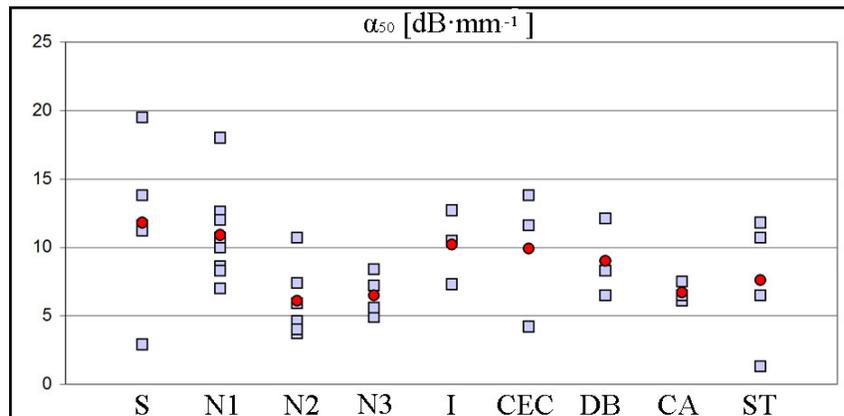


Figura V.15 – Valores de α_{50} [dB·mm⁻¹] e médias (pontos vermelhos) computados para cada grupo de amostras.

Coefficiente angular de atenuação (η_α): como observado na Figura V.17, o maior valor médio foi obtido para o grupo I, enquanto o menor foi obtido para o grupo DB, sendo que entre estes dois grupos, os valores se encontram dentro de faixas diferentes. Entre os restantes grupos de tecidos não foram evidenciadas diferenças.

Quando é realizada uma avaliação pareada de η_α , foram observados valores menores nas amostras CT em três dos quatro casos estudados (1, 2 e 4), como apresentado na Figura V.18.

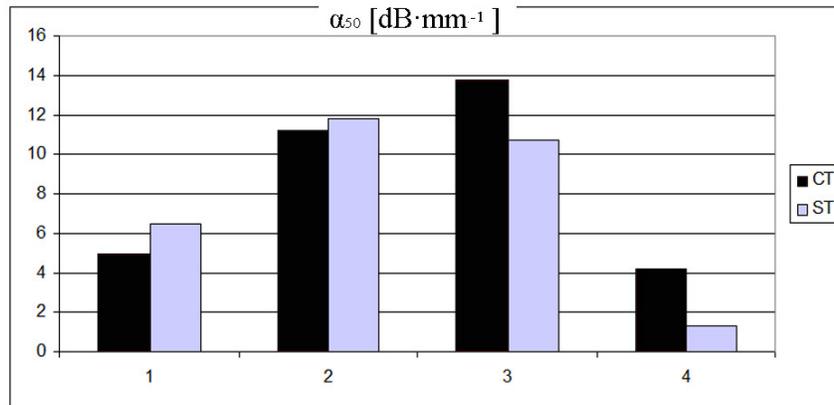


Figura V.16 – Avaliação pareada de α_{50} [dB·mm⁻¹].

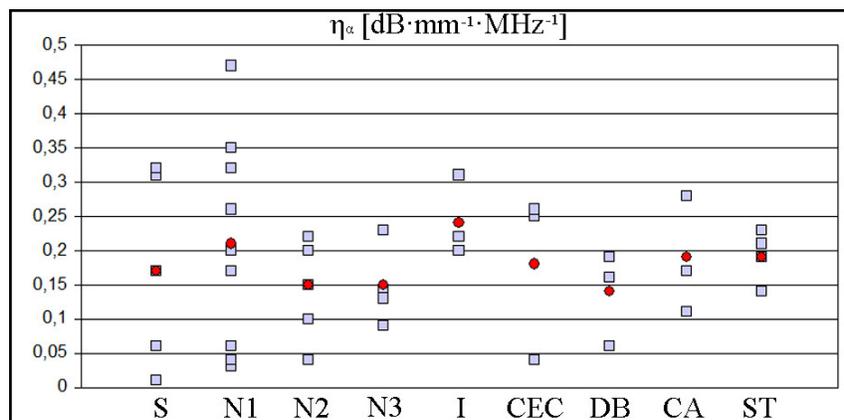


Figura V.17 – Valores de η_α [dB·mm⁻¹·MHz⁻¹] e médias computados para cada grupo de amostras.

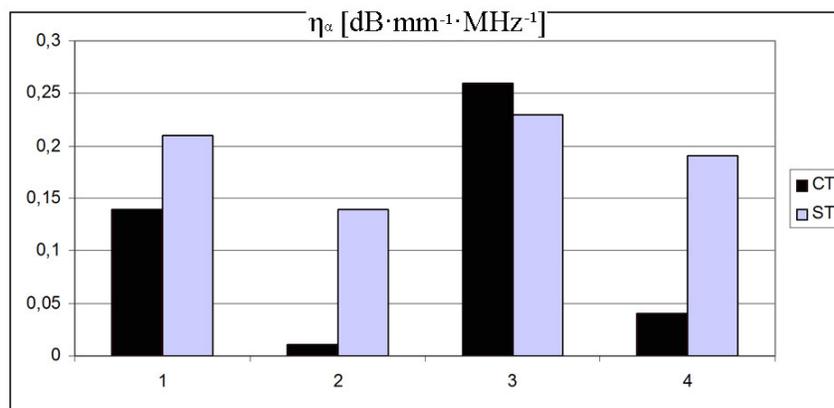


Figura V.18 – Avaliação pareada de η_α [dB·mm⁻¹·MHz⁻¹].

Coeficiente de retroespalhamento integrado (IBC): aqui são apresentadas separadamente as curvas obtidas para cada grupo de tecido, a fim de observar as particularidades próprias em cada um deles.

Para todos os casos do grupo S, o nível do IBC na região sub-epidérmica, afetada pela presença de estroma e infiltrado inflamatório associados ao tumor, foi menor que nas regiões mais profundas da derme, sendo os valores próximos a $1 \cdot e^{-4}$ e $1 \cdot e^{-3}$ [$\text{Sr}^{-1} \cdot \text{mm}^{-1}$] respectivamente, como pode ser observado na Figura V.19.

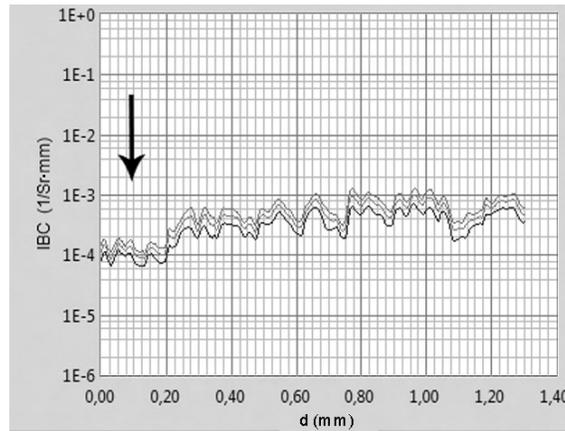


Figura V.19 – Curva de IBC (média \pm coeficiente de variação) obtida para um caso do grupo S. A seta indica a região sub-epidérmica (afetada pelo tumor).

Para os casos do grupo N1, as curvas de IBC apresentaram níveis muito variados, devido às diferenças anatômicas dentro destes tumores. Na maior parte dos casos foram observados valores dentro de uma faixa de $1 \cdot e^{-4}$ a $1 \cdot e^{-3}$ [$\text{Sr}^{-1} \cdot \text{mm}^{-1}$]; sendo que em poucos casos os valores foram próximos a $1 \cdot e^{-5}$ [$\text{Sr}^{-1} \cdot \text{mm}^{-1}$], (Figura V.20). Por sua vez, algumas curvas de IBC apresentaram valores mais uniformes em função da profundidade, enquanto em outras existiram regiões mais diferenciadas, dependendo da distribuição das massas tumorais na derme, e da presença de anexos cutâneos.

Nos casos correspondentes ao grupo N2, foram observados níveis mais constantes de IBC ao longo da profundidade do tecido, devido a que a massas tumorais ocupam quase a totalidade da derme (Figura V.21); sendo que na maioria dos casos os valores se encontraram numa faixa entre $1 \cdot e^{-5}$ e $1 \cdot e^{-4}$ [$\text{Sr}^{-1} \cdot \text{mm}^{-1}$].

Os casos observados no grupo N3 também apresentaram níveis de IBC relativamente constantes dentro da região ocupada pelo tumor (Figura V.22), se encontrando dentro de uma faixa de $1 \cdot e^{-5}$ e $1 \cdot e^{-4}$ [$\text{Sr}^{-1} \cdot \text{mm}^{-1}$], aproximadamente. Porém, à presença de hemácias neste grupo de tecido, observada nas imagens de BMU por aumentos nos níveis de ecogenicidade, não foi evidenciada pelos valores de IBC.

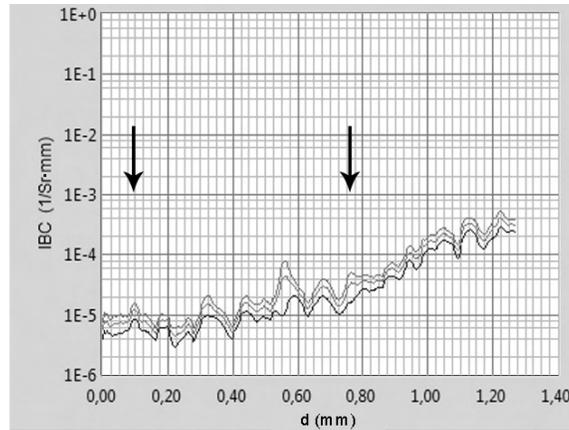


Figura V.20 – Curva de IBC (média \pm coeficiente de variação) obtida para um caso do grupo N1 (caso 1 da Figura V.3). As massas tumorais se distribuem na região superficial da derme, derivando em valores de IBC próximos a $1 \cdot e^{-5}$ [$\text{Sr}^{-1} \cdot \text{mm}^{-1}$] (setas); as regiões mais profundas apresentam valores próximos a $1 \cdot e^{-3}$ [$\text{Sr}^{-1} \cdot \text{mm}^{-1}$].

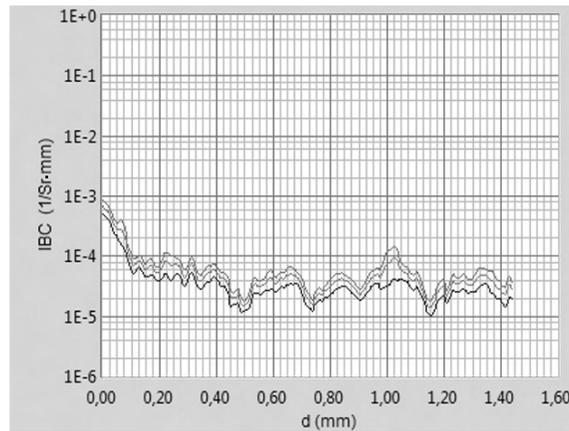


Figura V.21 – Curva de IBC (média \pm coeficiente de variação) obtida para um caso do grupo N2, sendo os níveis constantes e reduzidos (entre $1 \cdot e^{-5}$ e $1 \cdot e^{-4}$ [$\text{Sr}^{-1} \cdot \text{mm}^{-1}$]), devidos à presença de tumor ao longo de toda a espessura da derme.

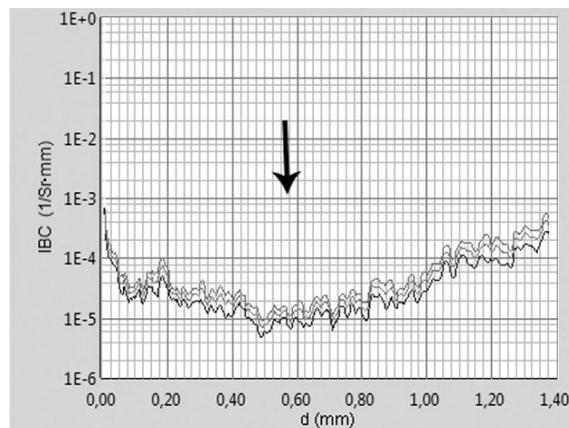


Figura V.22 – Curva de IBC (média \pm coeficiente de variação) obtida para um caso do grupo N3. A região ocupada pela massa tumoral apresenta níveis de retroespalhamento reduzidos (seta).

Dos casos analisados para o grupo I, foram observados níveis de IBC próximos a $1 \cdot e^{-4}$ [$\text{Sr}^{-1} \cdot \text{mm}^{-1}$] nas regiões afetadas pelo tumor, como apresentado na Figura V.23; já nas regiões mais profundas foram observados valores entre $1 \cdot e^{-3}$ e $1 \cdot e^{-2}$ [$\text{Sr}^{-1} \cdot \text{mm}^{-1}$].

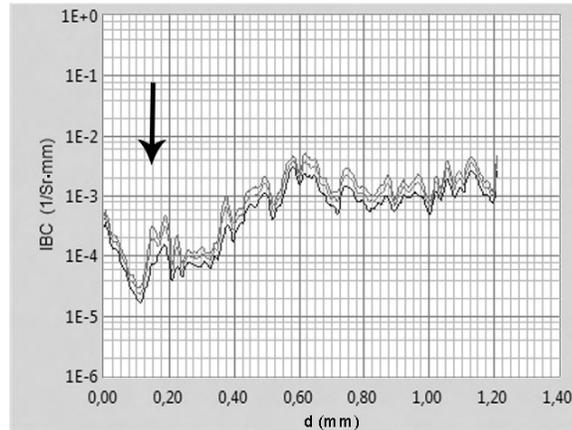


Figura V.23 – Curva de IBC (média \pm coeficiente de variação) obtida para um caso do grupo I (correspondente ao apresentado na Figura V.6). A região mais afetada pelo tumor (seta) apresenta níveis de IBC menores (próximos a $1 \cdot e^{-4}$ [$\text{Sr}^{-1} \cdot \text{mm}^{-1}$]) que as regiões mais profundas.

As curvas de IBC obtidas para o grupo CEC apresentaram grandes variações em seus níveis, nos três casos estudados, encontrando-se numa faixa de valores entre $1 \cdot e^{-5}$ e $1 \cdot e^{-2}$ [$\text{Sr}^{-1} \cdot \text{mm}^{-1}$] aproximadamente (Figura V.24).

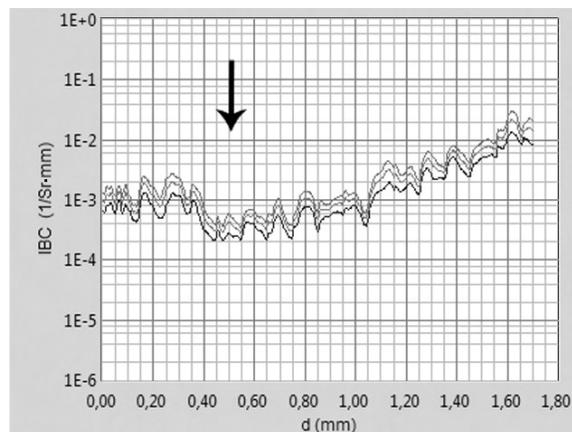


Figura V.24 – Curva de IBC (média \pm coeficiente de variação) obtida para um caso de CEC (correspondente ao caso 2 da Figura V.10). A região ocupada pelo tumor (seta) apresenta níveis de retroespalhamento menores que a parte mais profunda, porém, os valores são maiores (próximos $1 \cdot e^{-3}$ [$\text{Sr}^{-1} \cdot \text{mm}^{-1}$]) que os observados nos casos de CBC.

As curvas de IBC obtidas para todos os casos do grupo DB apresentaram características semelhantes entre si. Na região epidérmica (afetada pelo tumor) obtiveram-se níveis de IBC próximos a $1 \cdot e^{-5}$ [$\text{Sr}^{-1} \cdot \text{mm}^{-1}$], enquanto na derme, os níveis estiveram numa faixa entre $1 \cdot e^{-3}$ e $1 \cdot e^{-2}$ [$\text{Sr}^{-1} \cdot \text{mm}^{-1}$], como apresentado na Figura V.25.

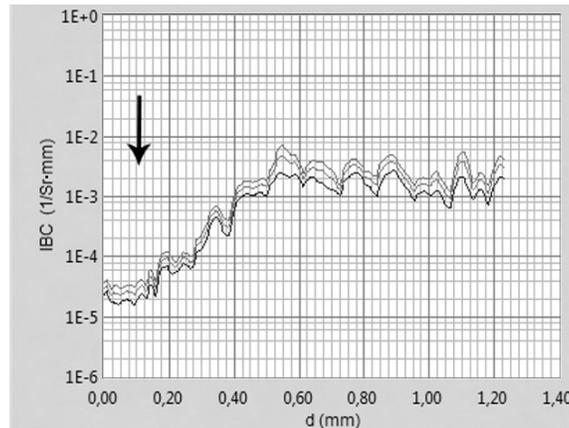


Figura V.25 – Curva de IBC (média \pm coeficiente de variação) obtida para um caso de DB, apresentando níveis menores (próximos $1 \cdot e^{-5}$ [$\text{Sr}^{-1} \cdot \text{mm}^{-1}$]) na região epidérmica afetada pelo tumor (seta).

As curvas de IBC para o grupo de CA apresentaram valores relativamente constantes nas regiões afetadas, com níveis próximos a $1 \cdot e^{-4}$ [$\text{Sr}^{-1} \cdot \text{mm}^{-1}$], como apresentado na Figura V.26.

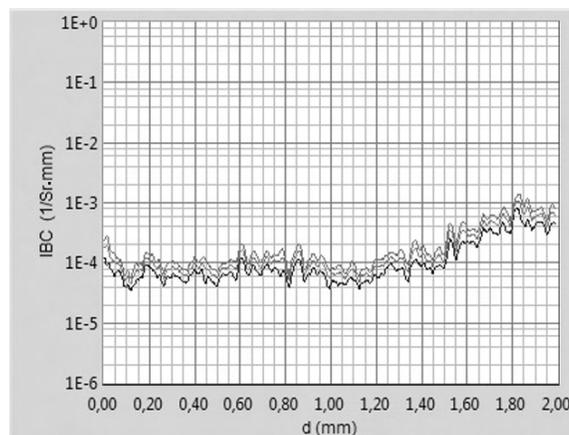


Figura V.26 – Curva de IBC (média \pm coeficiente de variação) obtida para um caso do grupo CA (correspondente ao apresentado na Figura V.12), com níveis constantes em toda a profundidade da região afetada (compreendida para valores de d entre 0-1,5 mm aproximadamente).

Para alguns dos casos analisados, correspondentes ao grupo ST, foram observados níveis de IBC reduzidos na derme superficial quando comparados com aqueles da derme profunda; isto pode ser devido a que as regiões adjacentes aos tumores (de onde foram obtidas estas amostras de tecido) às vezes apresentam algumas alterações como, por exemplo, a presença de infiltrado inflamatório. Em outro dos casos os níveis de IBC foram superiores que os observados para tumores, e constantes em toda a profundidade da derme (entre $1 \cdot e^{-3}$ e $1 \cdot e^{-2}$ [$\text{Sr}^{-1} \cdot \text{mm}^{-1}$]), como apresentado na Figura V.27.

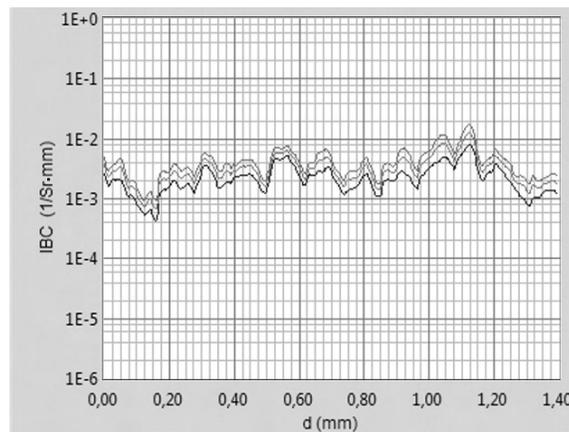


Figura V.27 – Curva de IBC (média \pm coeficiente de variação) obtida para um caso do grupo ST, apresentando níveis relativamente constantes em toda a espessura do tecido.

2.2. Parâmetros estatísticos.

Dos três modelos de PDF estudados, apenas as distribuições de Weibull e GG foram escolhidas para avaliação dos resultados, uma vez que a distribuição de Nakagami não apresentou um bom ajuste aos histogramas.

Assim, os parâmetros estudados são: SNR, b_W , c_{GG} e v_{GG} . A comparação dos resultados entre os diferentes grupos de tecidos foi realizada seguindo o mesmo procedimento que o utilizado com os parâmetros acústicos: primeiro são avaliados os valores obtidos em cada grupo de tecido e suas médias; posteriormente, é realizada uma comparação pareada entre regiões CT e ST da mesma amostra de tecido.

SNR, b_W e c_{GG} : estes três parâmetros seguem um comportamento semelhante sendo portanto analisados em forma conjunta (Figuras V.28 a V.30). A exceção de uma

amostra de CA, os casos restantes apresentaram características pré-Rayleigh ($SNR < 1,91$). O menor valor médio foi obtido para o grupo CEC, sendo que seus valores se distribuem numa faixa inferior àquelas dos grupos N2, CA e ST. Já o maior valor médio foi observado para o grupo CA. Para os grupos restantes observam-se faixas de valores superpostas.

Como apresentado nas Figuras V.28 a V.30, o parâmetro c_{GG} possui uma sensibilidade maior que os parâmetros SNR e b_w (isto é, diferenças nas propriedades dos tecidos geram diferenças maiores nos valores c_{GG} do que nos outros parâmetros).

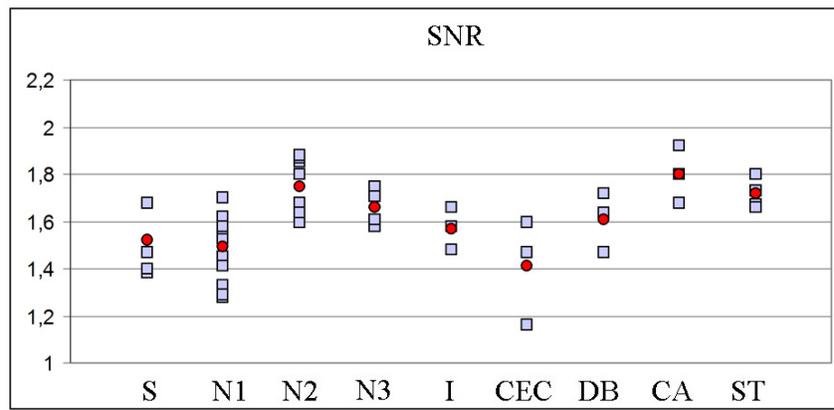


Figura V.28 – Valores de SNR e médias, computados para cada grupo de amostras. Observam-se características pré-Rayleigh ($SNR < 1,91$) exceto para uma amostra do grupo CA (condições de Rayleigh quando $SNR \approx 1,91$).

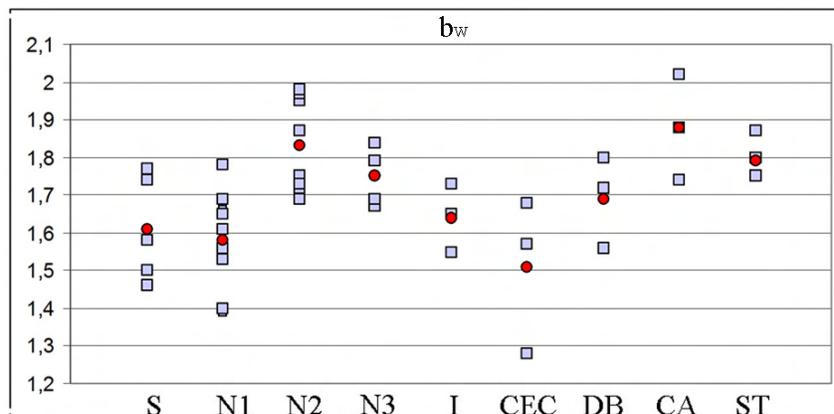


Figura V.29 – Valores de b_w e médias, computados para cada grupo de amostras. Observam-se características pré-Rayleigh ($0 < b_w < 2$) exceto para uma amostra do grupo CA (condições de Rayleigh quando $b_w \approx 2$).

Quando realizada a avaliação pareada destes três parâmetros, observaram-se características mais próximas às de Rayleigh em tecidos do grupo ST para três dos quatro casos analisados (Figuras V.31 a V.33). Para o caso restante (caso 1), a amostra

CT corresponde a um CBC superficial, no qual a região ocupada pelas massas tumorais foi muito pequena, sendo portanto a maior parte da ROI correspondente a outros componentes histológicos. Novamente, as diferenças observadas no parâmetro c_{GG} entre os tecidos CT e ST, foi maior que para os outros parâmetros, devido à maior sensibilidade do mesmo.

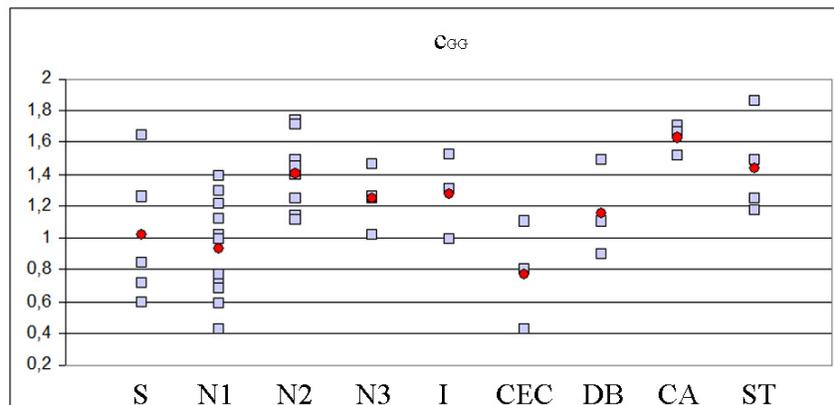


Figura V.30 – Valores de c_{GG} e médias, computados para cada grupo de amostras. Observam-se valores de $c_{GG} < 2$ em todos os casos (condições de Rayleigh para: $c_{GG} \approx 2$ e $v_{GG} \approx 1$).

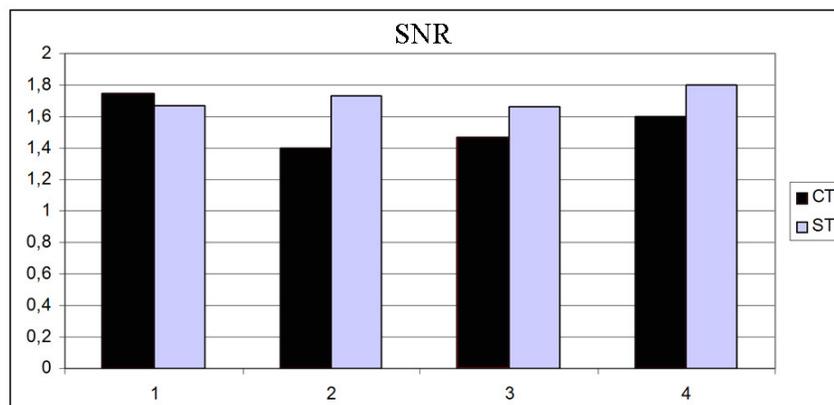


Figura V.31 – Avaliação pareada da SNR entre tecidos CT e ST.

v_{GG} : este parâmetro apresenta uma tendência oposta à SNR, como observado na Figura V.34, assim como uma sensibilidade maior. Aqui, o grupo CEC apresentou o maior valor médio, estando seus valores distribuídos numa faixa diferente (maior) às observadas para os grupos CA e ST. Por sua vez, o menor valor médio foi observado para o grupo CA. Entre os restantes grupos existe uma superposição das faixas de valores.

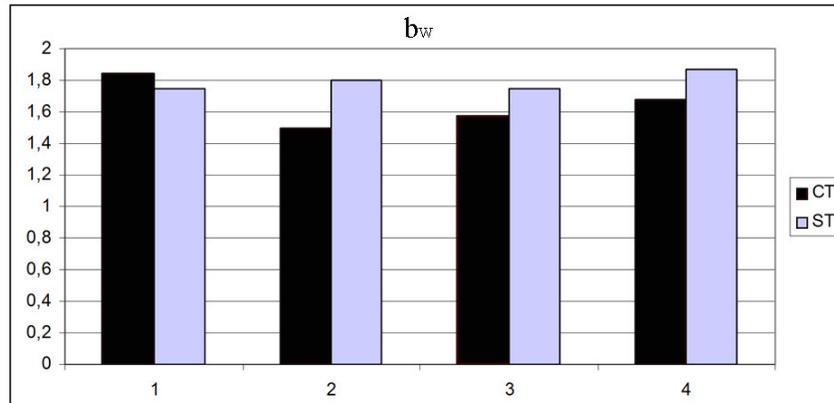


Figura V.32 – Avaliação pareada do parâmetro b_w entre tecido CT e ST.

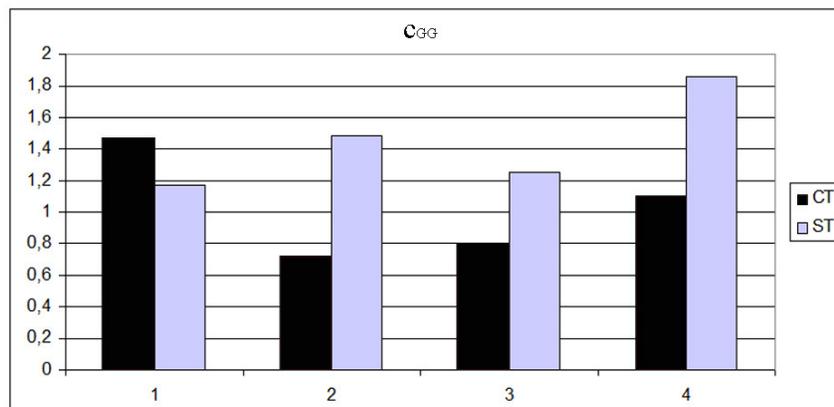


Figura V.33 – Avaliação pareada do parâmetro c_{GG} entre tecido CT e ST.

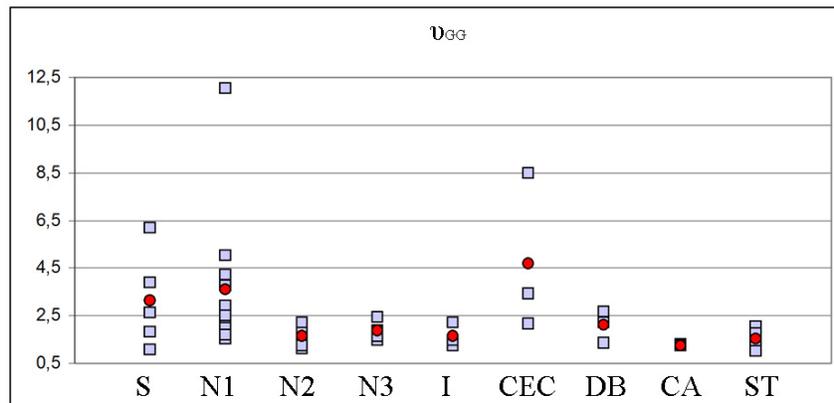


Figura V.34 – Valores de v_{GG} e médias, computados para cada grupo de amostras. Foram obtidos valores de $v_{GG} > 1$ em todos os casos (condições de Rayleigh para: $c_{GG} \approx 2$ e $v_{GG} \approx 1$).

Quando realizada a avaliação pareada de v_{GG} (Figura V.35), os valores foram maiores para tecidos CT em três dos quatro casos analisados (casos 2, 3 e 4). Observa-

se aqui também uma sensibilidade maior deste parâmetro (maiores diferenças entre tecido CT e ST), quando comparado com os mencionados anteriormente.

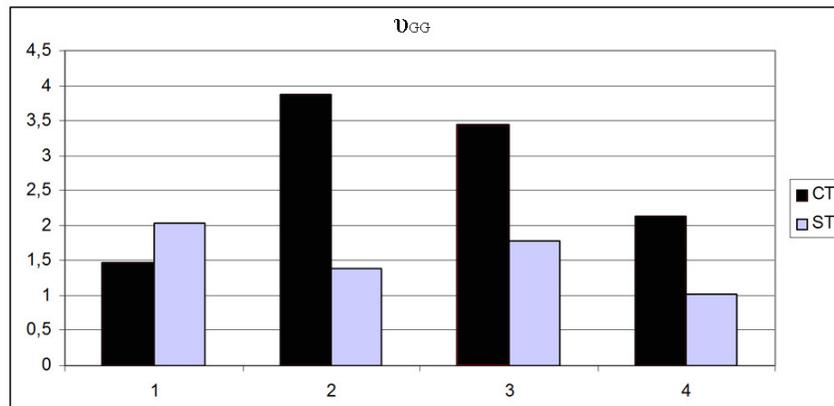


Figura V.35 – Comparação pareada de v_{GG} entre tecido CT e ST.

Capítulo VI: Discussão

1. Das imagens de BMU.

A partir das imagens obtidas por BMU foram identificadas as particularidades de alguns tipos de carcinoma cutâneo, como nos casos de CBC superficial e de DB, os quais apresentam aspectos anatômicos característicos e semelhantes entre pacientes. Em outros casos como CBC nodular com grandes massas tumorais, a demarcação do tumor nas imagens de BMU também foi evidenciada. Além disso, a diferenciação entre regiões de estroma, infiltrado inflamatório e massas tumorais (todos com aspecto hipocóico) foi possível em algumas imagens, facilitando mais ainda a demarcação do tumor.

Houve, porém, um número de carcinomas cutâneos cujo reconhecimento pelas imagens de BMU foi menos evidente. Isto pode ser devido a vários fatores, tais como: os tamanhos das massas tumorais serem reduzidos (inferior a 100 μm); anexos cutâneos podem também apresentar características hipocóicas, sendo confundidos com regiões de tumor; utilizar amostras de tecidos diferentes (embora de uma mesma lesão) para diagnóstico por MO e estudo por BMU, dificultou a identificação de estruturas, já que podem existir divergências entre tecidos adjacentes.

As observações qualitativas publicadas por outros autores em trabalhos prévios coincidem com as do presente trabalho, como é o caso do nível reduzido de ecogenicidade nas regiões do tumor, da presença de ecogenicidade heterogênea em muitos casos (MOORE e ALLAN, 2003, ALLAN *et al.*, 2002) e do maior nível de ecogenicidade no caso de CBC morféico (DESAI *et al.*, 2007). Por sua vez, no presente trabalho foi observada uma melhor diferenciação entre massa tumoral, infiltrado inflamatório e estroma, o qual facilitou o reconhecimento do tumor em muitos casos. Esta melhor identificação de estruturas pode em parte ser devida aos maiores níveis de frequência utilizadas neste trabalho.

De forma geral, a BMU apresentou potencial para o estudo de carcinomas cutâneos, e algumas modificações na metodologia podem ainda melhorar estes resultados, como: a realização de estudo *in vivo*, possibilitaria a observação tanto da lesão completa como das regiões adjacentes, o qual facilita a identificação das estruturas anatômicas presentes, evitando também alterações decorrentes do processo de excisão e

conservação do tecido; adicionalmente, sistemas de BMU trabalhando em mais de uma banda de frequência podem melhorar tanto as características de profundidade como de resolução.

2. Dos parâmetros acústicos.

Os valores obtidos para os diferentes parâmetros acústicos aqui estudados não evidenciaram uma separação entre os grupos de tecidos, embora as variações nas características anatômicas apresentadas em carcinomas cutâneos alterem as propriedades de propagação das ondas de US. A pobre diferenciação observada pode ser explicada por diversos fatores:

- Algumas das alterações que experimentam os tecidos afetados por tumores, como o aumento da irrigação sanguínea, favorecem a diferenciação entre tecido normal e carcinomatoso; porém, estas condições são abolidas mediante estudos *in vitro*, prejudicando o processo de caracterização.
- O método utiliza a informação do sinal que se propaga ao longo de toda a espessura do tecido, porém, nesta trajetória são encontrados, além das estruturas associadas ao tumor, outros componentes como anexos cutâneos ou hipoderme, o qual pode modificar e até ofuscar o efeito da presença do tumor.
- O método utilizado no cálculo destes parâmetros requer o posicionamento preciso do foco do transdutor nas diferentes interfaces do conjunto PVC / tecido / safira. Porém, como a região focal abrange uma determinada profundidade, sem se limitar a um único ponto, pequenas mudanças no posicionamento do transdutor introduzem variações consideráveis nos cálculos posteriores.

Embora os fatores mencionados anteriormente possam limitar as estimativas dos parâmetros, uma diferença entre grupos de amostras foi observada nos valores de c , quando é feita uma comparação pareada entre tecido ST e CT, tendo sido maior no primeiro caso. Isto indica que no estudo das propriedades acústicas, uma comparação intra-indivíduo de regiões com e sem tumor pode fornecer resultados úteis para aplicação prática.

Por sua vez, os valores obtidos para o grupo I apresentaram faixas de valores diferentes à de alguns dos outros grupos, para os três parâmetros estudados.

As curvas de IBC representaram aspectos característicos para alguns grupos de tecidos, sendo mais evidentes nos casos de CBC S e DB. Em outros tipos de tumores, devido às consideráveis diferenças anatômicas observadas entre amostras, esta caracterização não foi tão evidente.

Os valores obtidos para os diferentes parâmetros acústicos em tecidos ST encontram-se dentro da mesma faixa dos valores publicados por outros autores (MIYASAKA *et al.*, 2005, LEBERTRE *et al.*, 2002, PAN *et al.*, 1998, GUITTET *et al.*, 1999, RAJU e SRINIVASAN, 2001). Já os parâmetros obtidos para os casos de carcinoma, não puderam ser comparados devido a que não foram encontradas na literatura publicações deste tipo.

Finalmente, para aplicações *in vivo* do cálculo de parâmetros acústicos com fins diagnósticos, importantes mudanças no método devem ser introduzidas, já que no caso atual foi necessário o posicionamento do tecido entre um material refletor e um filme de PVC. O uso de outros métodos para cálculo de atenuação ou retroespalhamento, como aqueles utilizados por GUITTET *et al.*, (1999) e RAJU e SRINIVASAN, (2001), são uma alternativa mais propícia para aplicações *in vivo*.

3. Dos parâmetros estatísticos.

Dos resultados obtidos para estes parâmetros, foram observadas características mais próximas às de Rayleigh nos grupos ST e CA, quando comparados com alguns tipos de tumores (como S, N1 e CEC). Estas tendências foram também confirmadas quando realizada uma avaliação pareada dos resultados, em três dos quatro casos observados. Isto pode ser devido a uma menor densidade de espalhadores com distribuições menos uniformes das seções de choques ante a presença de tumor.

Com essas observações, pode se inferir que este tipo de parâmetro apresenta potencial para caracterização de mudanças anatômicas nos tecidos. A dificuldade para diferenciação dos parâmetros em alguns dos grupos pode ser diminuída, mudando algumas características da metodologia aplicada, como:

- O trabalho com tecidos *in vitro* pode ocasionar as mesmas dificuldades contempladas para parâmetros acústicos, e se espera que estudos *in vivo* possam melhorar os resultados.

- Em alguns casos as massas tumorais apresentam tamanhos muito pequenos (como nos casos de CBC superficial), fazendo com que a ROI escolhida contenha outros componentes histológicos, além daqueles vinculados ao tumor, comprometendo a significância dos resultados. A aquisição de vários planos de imagens paralelos (varredura 3D) pode proporcionar uma quantidade maior de dados para a construção do histograma e, portanto, um melhor ajuste das curvas de PDF, em todos os tipos de carcinoma cutâneo.

Este método apresenta algumas vantagens em relação ao cálculo de parâmetros acústicos, entre elas podemos mencionar:

- A ROI é selecionada da imagem, podendo ser evitada a influência de outros componentes histológicos presentes no tecido (como hipoderme ou glândulas).
- Os resultados não são diretamente influenciados por variações no posicionamento do foco do transdutor, já que esta informação não é utilizada durante o cálculo dos parâmetros (como acontece com parâmetros acústicos); aqui, a posição do foco pode afetar ligeiramente a amplitude dos sinais durante a compensação dos efeitos de atenuação e difração.
- A aplicação do método para estudos *in vivo* requer menos adaptações, já que os cálculos são realizados a partir dos sinais retroespalhados pelo tecido (sem fazer uso dos ecos provenientes das interfaces).

Capítulo VII: Conclusão

No presente trabalho foi realizado um estudo de carcinomas cutâneos mediante a avaliação de suas propriedades acústicas. Embora outros trabalhos tenham analisado este tipo de lesões mediante imagens obtidas por BMU, o cálculo de parâmetros quantitativos aqui utilizado não foi encontrado em trabalhos previamente publicados na literatura, dando uma nova abordagem neste tipo de estudo.

- Mediante a observação qualitativa das imagens de BMU, foram identificadas importantes características em uma grande parte dos casos estudados, auxiliando na caracterização do tipo de tumor, embora a informação contida nas mesmas, não seja suficiente para fins diagnósticos.
- Na avaliação de parâmetros acústicos, algumas características da metodologia implementada dificultaram a caracterização dos diversos grupos de tecido, embora algumas tendências tenham sido observadas. Já as curvas de IBC, em vários casos estudados, apresentaram valores que parecem ser representativos das mudanças experimentadas pelos tecidos carcinomatosos.
- Os parâmetros estatísticos apresentaram algumas tendências em seus valores, para tecidos com e sem presença de carcinoma. Entre os diferentes tipos de carcinomas foram evidenciadas poucas diferenças.
- Com os resultados obtidos até o momento, ainda não podem ser determinados os parâmetros mais apropriados para caracterização de carcinomas cutâneos; para isto, algumas modificações na metodologia (sugeridas no Capítulo VI), assim como a análise de uma quantidade maior de amostras de tecido, devem ser implementadas.

Embora os resultados sejam ainda preliminares para validar o potencial de diagnóstico de carcinomas cutâneos, mediante US de alta frequência, eles incentivam o desenvolvimento de novas pesquisas nesta área.

Referências Bibliográficas

- ALLAN, E., PYE, D.A., LEVINE, E.L., et al., 2002, "Non-Invasive Pulsed Ultrasound Quantification of the Resolution of Basal Cell Carcinomas After Photodynamic Therapy", **Lasers Med Sci**, v. 17, pp. 230-237.
- BEDLOW, A.J., STANTON, A.W.B., CLIFF, S., et al., 1999, "Basal Cell Carcinoma - an In Vivo Model of Human Tumor Microcirculation", **Experimental Dermatology**, v. 8, pp. 222-226.
- BESSONART, M.N., MACEDO, N., CARMONA, C., 2005, "High-Resolution B-Scan Ultrasound of Hypertrophic Scars", **Skin Research and Technology**, v. 11, pp. 185-188.
- BESSOUD, B., LASSAU, N., KOSCIELNY, S., et al., 2003, "High-Frequency Sonography and Color Doppler in the Management of Pigmented Skin Lesions", **Ultrasound in Medicine & Biology**, v. 29, n. 6, pp. 875-879.
- CELEBI, M.E., ASLANDOGAN, Y.A., STOECKER, W.V., et al., 2007, "Unsupervised border detection in dermoscopy images", **Skin Research and Technology**, v. 13, pp. 454-462.
- CHEN, L., DYSON, M., RYMER, J., et al., 2001, "The Use of High-Frequency Diagnostic Ultrasound to Investigate the Effect of Hormone Replacement Therapy on Skin Thickness", **Skin Research and Technology**, v. 7, pp. 95-97.
- COBBOLD, R.S.C., 2007, **Foundations of Biomedical Ultrasound**. 1 ed. New York, Oxford University Press.
- DESAI, T.J., DESAI, A.D., HOROWITZ, D.C., et al., 2007, "The Use of High-Frequency Ultrasound in the Evaluation of Superficial and Nodular Basal Cell Carcinomas", **Dermatologic Surgery**, v. 33, pp. 1220-1227.

- DIRIDOLLOU, S., BERSON, M., VABRE, V., et al., 1998, "An In Vivo Method for Measurement the Mechanical Properties of the Skin Using Ultrasound", **Ultrasound in Medicine & Biology**, v. 24, n. 2, pp. 215-224.
- DYSON, M., MOODLEY, S., VERJEE, L., et al., 2003, "Wound Healing Assessment Using 20 MHz Ultrasound and Photography", **Skin Research and Technology**, v. 9, n. 116-121.
- FISH, P., 1990, **Physics and Instrumentation of Diagnostic Medical Ultrasound**. 1 ed. Chichester, John Wiley & Sons.
- FORNAGE, B.D., MCGAVRAN, M.H., DUVIC, M., et al., 1993, "Imaging of the skin with 20-MHz US", **Radiology**, v. 189, pp. 69-76.
- FOSTER, F.S., PAVLIN, C.J., HARASIEWICZ, K.A., et al., 2000, "Advances in Ultrasound Biomicroscopy", **Ultrasound in Medicine & Biology**, v. 26, n. 1, pp. 1-27.
- FOSTER, F.S., ZHANG, M.Y., DUCKETT, A.S., et al., 2003, "In Vivo Imaging of Embryonic Development in the Mouse Eye by Ultrasound Biomicroscopy", **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, v. 44, n. 6, pp. 2361-2366.
- FOURNIER, C., BRIDAL, S.L., BERGER, G., et al., 2001, "Reproducibility of skin characterization with backscatter spectra (12-25 MHz) in healthy subjects", **Ultrasound in Medicine & Biology**, v. 27, n. 5, pp. 603-610.
- GENNISSON, J.-L., BALDEWECK, T., TANTER, M., et al., 2004, "Assessment of elastic parameters of human skin using dynamic elastography", **IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control**, v. 51, n. 8, pp. 980-989.
- GENSANNE, D., JOSSE, G., THEUNIS, J., et al., 2008, "Quantitative Magnetic Resonance Imaging of Subcutaneous Adipose Tissue", **Skin Research and Technology**, v. 15, n. 1, pp. 45-50.

- GOLDGEIRER, M., FOX, C.A., ZAVISLAN, J.M., et al., 2003, "Noninvasive Imaging, Treatment, and Microscopic Confirmation of Clearance of Basal Cell Carcinoma", **Dermatologic Surgery**, v. 29, pp. 205-210.
- GOTTLÖBER, P., KERSCHER, M.J., KORTING, H.G., et al., 1997, "Sonographics Determination of Cutaneous and Subcutaneous Fibrosis After Accidental Exposure of Ionizing Radiation in the Course of the Chernobyl Nuclear Power Plant Accident", **Ultrasound in Medicine & Biology**, v. 23, n. 1, pp. 9-13.
- GUITTET, C., OSSANT, F., REMENIERAS, J.-P., et al., 1999, "High-frequency estimation of the ultrasonic attenuation coefficient slope obtained in human skin: simulation and in vivo results", **Ultrasound in Medicine & Biology**, v. 25, n. 3, pp. 421-429.
- JORGENSEN, T.M., TYCHO, A., MOGENSEN, M., et al., 2008, "Machine-learning classification of non-melanoma skin cancers from image features obtained by optical coherence tomography", **Skin Research and Technology**, v. 14, pp. 364-369.
- KONDABOLU, S., KHAN, S., WHYARD, J., et al., 2004, "The Role of Endoluminal Ultrasonography in Urology: Current Perspectives", **International Brazilian Journal of Urology**, v. 30, n. 2, pp. 96-101.
- LAGARDE, J.M., GEORGE, J., SOULCIÉ, R., et al., 2005, "Automatic Measurement of Dermal Thickness from B-Scan Ultrasound Images Using Active Contours", **Skin Research and Technology**, v. 11, pp. 79-90.
- LEBERTRE, M., OSSANT, F., VAILLANT, L., et al., 2002, "Spatial variation of acoustic parameters in human skin: an in vitro study between 22 and 45 MHz", **Ultrasound in Medicine & Biology**, v. 28, n. 5, pp. 599-615.
- LEE, S.Y., LEE, J.S., OH, C.H., 2006, "Image analysis for quantification of nucleolar organizer regions in basal cell carcinomas and seborrheic keratosis", **Skin Research and Technology**, v. 1, n. 4, pp. 173-176.

- MACHADO, J.C. e FOSTER, F.S., 2001, "Ultrasonic Backscatter Integrated Coefficient Profiling of Human Coronary Arteries In Vitro", **IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control**, v. 48, pp. 17-27.
- MACHADO, J.C., FOSTER, F.S., GOTLIEB, A.I., 2002, "Measurement of the Properties of Human Coronary Arteries In Vitro with 50 MHz Acoustic Microscopy", **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 35, n. 8, pp. 895-903.
- MIRPURI, N.G., DYSON, M., RYMER, J., et al., 2001, "High-Frequency Ultrasound Imaging of the Skin During Normal and Hypertensive Pregnancies", **Skin Research and Technology**, v. 7, pp. 65-69.
- MIYASAKA, M., SAKAI, S., KUSAKA, A., et al., 2005, "Ultrasonic Tissue Characterization of Photodamaged Skin by Scanning Acoustic Microscopy", **Tokai J Exp Clin Med.**, v. 30, n. 4, pp. 217-225.
- MOGENSEN, M., NÜRNBERG, B.M., FORMAN, J.L., et al., 2009, "In vivo thickness measurement of basal cell carcinoma and actinic keratosis with optical coherence tomography and 20-MHz ultrasound", **British Journal of Dermatology**, v. 160, pp. 1026-1033.
- MOORE, J.V. e ALLAN, E., 2003, "Pulsed ultrasound measurements of depth and regression of basal cell carcinomas after photodynamic therapy: relationship to probability of 1-year local control", **British Journal of Dermatology**, v. 149, pp. 1035-1040.
- NAKADA, K., TOYODA, M., NAKAMURA, M., MOROHASHI, M., 2004, "Ultrastructural Characterization of the Distribution of Melanine and Epidermal Macrophages in Photodamaged Skin", **Medical Electron Microscopy**, v. 37, pp. 177-187.
- NOUVEAU-RICHARD, S., MONOT, M., BASTIEN, P., et al., 2004, "In Vivo Epidermal Thickness Measurement: Ultrasound vs. Confocal Imaging", **Skin Research and Technology**, v. 10, pp. 136-140.

- OKAMOTO, H., WATANABE, K., NAGATOMO, A., et al., 2002, "Endobronchial Ultrasonography for Mediastinal and Hilar Lymph Node Metastase of Lung Cancer - Clinical Investigation", **Chest**, v. 121, pp. 1498-1506.
- PAN, L., ZAN, L., FOSTER, F.S., 1998, "Ultrasonic and viscoelastic properties of the skin under transverse mechanical stress in vitro", **Ultrasound in Medicine & Biology**, v. 24, n. 7, pp. 995-1007.
- PAVLIN, C.J., FOSTER, F.S., 1995, **Ultrasound Biomicroscopy of the Eye**. 1 ed. New York, Springer-Verlag.
- PETRELLA, L.I., 2006, **Montagem de um Sistema para Geração de Imagens por Biomicroscopia Ultra-Sônica**. Tese de M.Sc., COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil,
- PETRELLA, L.I., MARTINS, C.J., VALLE, H.A., et al., 2008, "Estudo Qualitativo de Doenças Cutâneas por Biomicroscopia Ultra-Sônica". In: **XXI Congresso Brasileiro de Engenharia Biomedica**, pp. 1050-1053, Salvador
- PETRELLA, L.I., VALLE, H.A., ISSA, P.R., et al., 2010, "Study of Cutaneous Cell Carcinomas Ex Vivo by Ultrasonic Biomicroscopy Images", **Skin Research and Technology**, D.O.I. 10.1111/j.1600-0846.2010.00448.x, n.
- RAJU, B.I. e SRINIVASAN, M.A., 2001, "High-Frequency Ultrasonic Attenuation and Backscatter Coefficients of *In Vivo* Normal Human Dermis and Subcutaneous Fat", **Ultrasound in Medicine & Biology**, v. 27, n. 11, pp. 1543-1556.
- RAJU, B.I. e SRINIVASAN, M.A., 2002, "Statistics of envelope of high-frequency ultrasonic backscatter from human skin in vivo", **IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control**, v. 49, pp. 871-882.
- RAJU, B.I., SWINDELLS, K.J., GONZALEZ, S., et al., 2003, "Quantitative Ultrasonic Methods for Characterizations of Skin Lesions *In Vivo*", **Ultrasound in Medicine & Biology**, v. 29, n. 6, pp. 825-838.

- RALLAN, D. e HARLAND, C.C., 2004, "Ultrasound in Dermatology - Basic Principles and Applications", **Clinical and Experimental Dermatology**, v. 28, pp. 632-638.
- SCHMID-WENDTNER, M.H. e BURGDORF, W., 2005, "Ultrasound Scanning in Dermatology", **Arch Dermatol.**, v. 141, pp. 217-224.
- SCHOU, A.J., THOMSEN, K., PLOMGAARD, A.M., et al., 2004, "Methodological Aspects of High-Frequency Ultrasound of Skin in Children", **Skin Research and Technology**, v. 10, pp. 200-206.
- SENOH, D., YANAGIHARA, T., AKIYAMA, M., et al., 1999, "Laparoscopy-Assisted Intrapelvic Sonography with High-Frequency Real Time Miniature Transducers for Assessment of the Fallopian Tube: a Preliminary Report", **Human Reproduction**, v. 13, n. 3, pp. 704-706.
- SHANKAR, P.M., DUMANE, V.A., REID, J.M., et al., 2001, "Classification of Ultrasonic B-mode Images of Breast Masses Using Nakagami Distribution", **IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control**, v. 48, n. 2, pp. 569-580.
- SKIN CARE FORUM. Disponível em: <http://www.scf-online.com>. Acesso em: 07/11/08.
- SOLDAN, M., MACHADO, J.C., PEREIRA, F.R., et al., 2004, "Biomicroscopia Ultra-Sônica Aplicada a Caracterização de Esôfago". In: **III Congresso Latino-Americano de Engenharia Biomédica e XIX Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica**, pp. 1603-1606, Paraíba, Sep.
- SON, S.W., PARK, S.Y., PARK, G.M., et al., 2008, "Ex vivo imaging of basal cell carcinoma using synchrotron phase-contrast X-ray microscopy", **Skin Research and Technology**, v. 14, p. 13-17.
- STANLEY, R.J., STOECKER, W.V., MOSS, R.H., 2007, "A relative color approach to color discrimination for malignant melanoma detection in dermoscopy images", **Skin Research and Technology**, v. 13, pp. 62-72.

- TÖYRÄS, J., NIEMINEM, H.J., LAASANEN, M.J., et al., 2002, "Ultrasound Characterization of Articular Cartilage", **Biorheology**, v. 29, pp. 161-169.
- TURNBULL, D.H., RAMSAY, J.A., SHIVJI, G.S., 1996, "Ultrasound Backscatter Microscope Analysis of Mouse Melanoma Progression", **Ultrasound in Medicine & Biology**, v. 22, n. 7, pp. 845-853.
- UHARA, H., HAYASHI, K., KOGA, H., et al., 2007, "Multiple Hypersonographic Spots in Basal Cell Carcinoma", **Dermatologic Surgery**, v. 33, pp. 1215-1219.
- VOGT, M. e EMERT, H., 2005, "Development and Evaluation of a High-Frequency Ultrasound-Based System for In Vivo Strain Imaging of the Skin", **IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control**, v. 52, n. 3, pp. 375-385.
- WALLACE, V.P., FITZGERALD, A.J., SHANKAR, S., et al., 2004, "Terahertz pulsed imaging of basal cell carcinoma ex vivo and in vivo", **British Journal of Dermatology**, v. 151, pp. 424-432.
- WALLER, J.M. e MAIBACH, J.I., 2005, "Age and Skin Structure and Function, a Quantitative Approach (I): Blood Flow, pH, Thickness, and Ultrasound Echogenicity", **Skin Research and Technology**, v. 11, pp. 221-235.
- WEEDON, D., MARKS, R., KAO, G.F., et al., 2006, "Keratinocytic tumors". In: LEBOIT, P.E., BURG, G., WEEDON, D. et al. (eds), **Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Skin Tumours**, 1 ed., chapter 1, Lyon, IARC Press.
- WIRTZFELD, L.A., WU, G., BYGRAVE, M., et al., 2005, "A New Three-Dimensional Ultrasound Microimaging Technology for Preclinical Studies Using a Transgenic Prostate Cancer Mouse Model", **Cancer Research**, v. 65, pp. 14, pp. 6337-6345.
- XHAUFLAIRE-UHODA, E. e PIÉRARD, G.E., 2007, "Skin capacitance imaging of acne lesions", **Skin Research and Technology**, v. 13, pp. 9-12.

YE, S.G., HARASIEWICZ, K.A., PAVLIN, C.J., et al., 1995, "Ultrasound Characterization of Normal Ocular Tissue in the Frequency Range from 50 to 100 MHz", **IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control**, v. 42, n. 1, pp. 8-14.

Anexo I

1. Características dos tecidos.

Tabela AI.1 – Características dos tecidos. F: conservação em formol ao 10%; G: conservação em gelo.

Tipo de Tecido	Nº	Modo extração [diâmetro]	Modo Conservação	Espesura [mm]
CBC Superficial	1	Punch [3 mm]	F	2,3
	2	Punch [3 mm]	G	3,0
	3	Bisturi	F	3,4
	4	Punch [3 mm]	F	2,0
	5	Punch [2 mm]	F	1,5
CBC Nodular (N1)	1	Punch [3 mm]	G	2,3
	2	Punch [3 mm]	G	2,2
	3	Punch [2 mm]	G	3,0
	4	Punch [3 mm]	F	4,1
	5	Punch [3 mm]	F	1,1
	6	Punch [3 mm]	F	1,7
	7	Punch [2 mm]	F	1,0
	8	Punch [3 mm]	G	2,3
	9	Bisturi	G	3,1
	10	Punch [4 mm]	G	3,3
	11	Punch [3 mm]	G	3,5
CBC Nodular (N2)	1	Punch [3 mm]	F	4,2
	2	Punch [3 mm]	F	2,2
	3	Punch [3 mm]	G	1,6
	4	Punch [5 mm]	G	2,8
	5	Punch [3 mm]	G	1,7
	6	Punch [3 mm]	F	1,3
	7	Punch [4 mm]	F	2,0
	8	Punch [3 mm]	F	2,3
CBC Nodular (N3)	1	Bisturi	G	5,3
	2	Punch [3 mm]	G	2,7
	3	Punch [3 mm]	F	4,5
	4	Punch [4 mm]	F	3,8
CBC Infiltrativo	1	Punch [3 mm]	G	1,7
	2	Punch [3 mm]	G	3,3
	3	Punch [2 mm]	F	0,8
CBC Pigmentado	1	Punch [4 mm]	F	1,8
CBC Morfeico	1	Punch [3 mm]	G	1,3
CBC Adenóide	1	Punch [2 mm]	G	2,0
CBC Basoescamoso	1	Punch [4 mm]	F	3,3
CEC	1	Bisturi	G	2,7
	2	Bisturi	F	2,3

Doença de Bowen	3	Bisturi	F	7,0
	1	Punch [3 mm]	G	2,4
	2	Punch [4 mm]	G	2,6
	3	Punch [3 mm]	F	2,8
Ceratose Actínica	1	Bisturi	G	1,9
	2	Bisturi	G	4,8
	3	Punch [2 mm]	G	1,9
Borda da Lesão	1	Bisturi	G	1,8
	2	Bisturi	F	3,3
	3	Punch [5 mm]	F	2,4
	4	Bisturi	F	7,0

2. Parâmetros acústicos.

Tabela AI.2 – Parâmetros acústicos obtidos para cada amostra de tecido.

Tipo de Tecido		c [m·s ⁻¹]	α_{50} [dB·mm ⁻¹]	η_{α} [dB·mm ⁻¹ ·MHz ⁻¹]
CBC Superficial	1	1543	13,8	0,31
	2	2176	11,6	0,17
	3	1704	11,2	0,01
	4	1958	19,5	0,32
	5	1491	2,86	0,06
CBC Nodular (N1)	1	1917	7,00	0,35
	2	1511	10,5	0,17
	3	1770	10,0	0,32
	4	1564	8,60	0,20
	5	1684	12,6	0,06
	6	1815	8,30	0,03
	7	1111	18,0	0,47
	8	2035	10,7	0,04
	9	1586	12,0	0,26
CBC Nodular (N2)	1	1684	10,7	0,22
	2	1677	4,60	0,20
	3	1564	5,90	0,15
	4	2125	3,70	0,10
	5	1601	7,40	0,20
	6	1452	4,00	0,04
CBC Nodular (N3)	1	1577	4,95	0,14
	2	1725	8,40	0,23
	3	1629	7,20	0,13
	4	1657	5,59	0,09
CBC Nodular Cístico	1	1495	10,6	0,21
CBC Infiltrativo	1	1515	10,5	0,31
	2	1506	7,30	0,20
	3	1022	12,7	0,22
CBC Pigmentado	1	2111	17,4	0,30
CBC Morfeico	1	1577	3,17	0,06

CBC Adenóide	1	1598	3,06	0,07
CBC Basoescamoso	1	1703	10,0	0,08
CEC	1	1650	11,6	0,25
	2	1576	13,8	0,26
	3	1581	4,20	0,04
Doença de Bowen	1	1561	6,48	0,16
	2	3011	8,35	0,19
	3	1770	12,1	0,06
Ceratose Actínica	1	1543	7,50	0,28
	2	1686	6,15	0,11
	3	1590	6,50	0,17
Borda da Lesão	1	1718	6,50	0,21
	2	1790	11,8	0,14
	3	1563	10,7	0,23
	4	1946	1,30	0,19

3. Parâmetros Estatísticos.

Tabela AI.3 – Parâmetros estatísticos obtidos para cada amostra de tecido.

Tipo de Tecido	Nº	SNR	b _w	c _{GG}	v _{GG}
CBC Superficial	1	1,47	1,58	0,60	6,17
	2	1,38	1,46	0,85	2,65
	3	1,40	1,50	0,72	3,88
	4	1,68	1,77	1,26	1,81
	5	1,68	1,74	1,65	1,09
CBC Nodular (N1)	1	1,45	1,56	0,72	4,25
	2	1,28	1,39	0,68	3,80
	3	1,53	1,61	1,02	2,27
	4	1,62	1,69	1,29	1,59
	5	1,33	1,40	0,77	2,90
	6	1,58	1,66	1,12	2,01
	7	1,57	1,66	0,99	2,53
	8	1,70	1,78	1,39	1,52
	9	1,41	1,53	0,42	12,04
	10	1,29	1,4	0,59	5,06
	11	1,58	1,65	1,22	1,69
CBC Nodular (N2)	1	1,64	1,72	1,25	1,74
	2	1,85	1,95	1,49	1,59
	3	1,68	1,75	1,40	1,46
	4	1,87	1,97	1,45	1,71
	5	1,80	1,87	1,74	1,13
	6	1,88	1,98	1,72	1,27
	7	1,60	1,69	1,14	1,99
	8	1,64	1,73	1,11	2,20
CBC Nodular (N3)	1	1,75	1,84	1,47	1,46
	2	1,71	1,79	1,25	1,89

	3	1,58	1,67	1,02	2,43
	4	1,61	1,69	1,26	1,66
CBC Infiltrativo	1	1,48	1,55	0,99	2,23
	2	1,66	1,73	1,53	1,23
	3	1,58	1,65	1,31	1,49
CBC Pigmentado	1	1,31	1,41	0,64	4,27
CBC Morfeico	1	1,85	1,93	1,82	1,10
CBC Adenóide	1	1,67	1,75	1,29	1,70
CBC Basoescamoso	1	1,78	1,86	1,68	1,18
CEC	1	1,16	1,28	0,42	8,46
	2	1,47	1,57	0,80	3,44
	3	1,60	1,68	1,10	2,14
Doença de Bowen	1	1,72	1,80	1,49	1,38
	2	1,47	1,56	0,90	2,71
	3	1,64	1,72	1,10	2,22
Ceratoze Actínica	1	1,92	2,02	1,71	1,32
	2	1,68	1,74	1,52	1,26
	3	1,80	1,88	1,66	1,23
Borda da Lesão	1	1,67	1,75	1,17	2,03
	2	1,73	1,80	1,49	1,38
	3	1,66	1,75	1,25	1,79
	4	1,80	1,87	1,86	1,01

Anexo II

1. Sinais de RF retroespalhados pelos tecidos (BM).

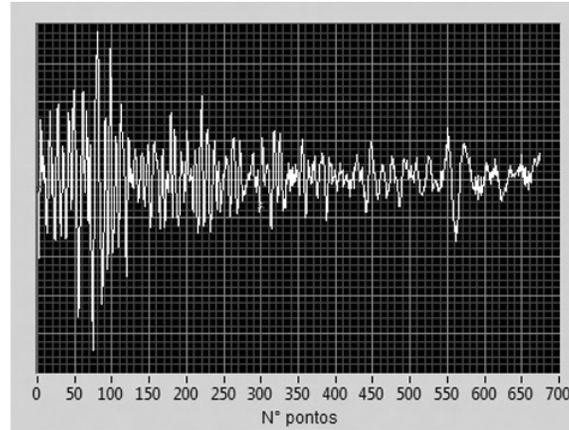


Figura AII.1 – Sinal BM para uma amostra de CBC S (correspondente à Figura V.19).

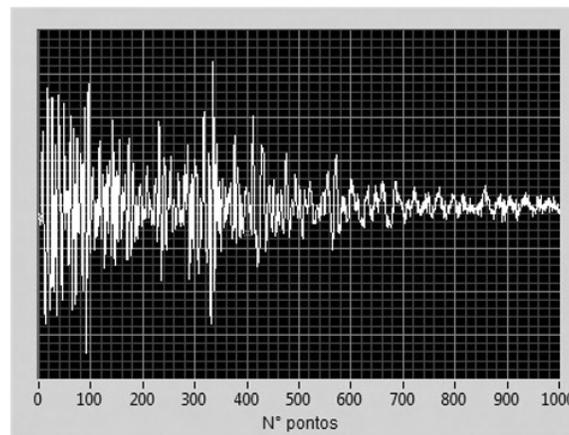


Figura AII.2 – Sinal BM para uma amostra de CBC N1 (correspondente à Figura V.20).

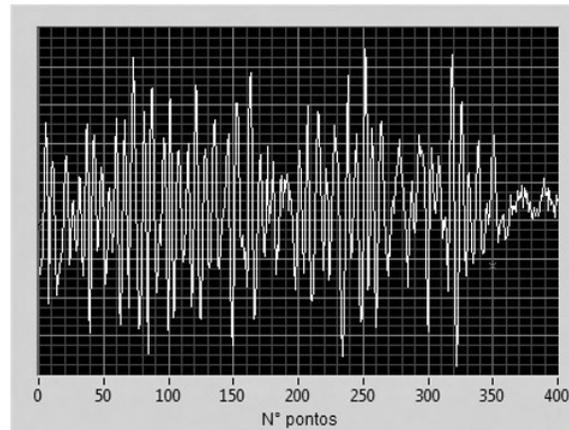


Figura AII.3 – Sinal BM para uma amostra de CBC N2 (correspondente à Figura V.21).

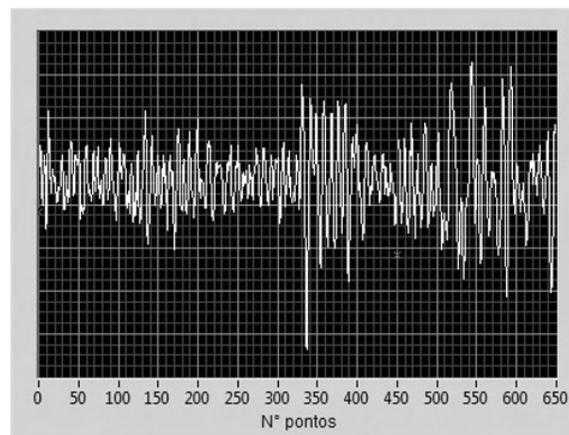


Figura AII.4 – Sinal BM para uma amostra de CBC N3 (correspondente à Figura V.22).

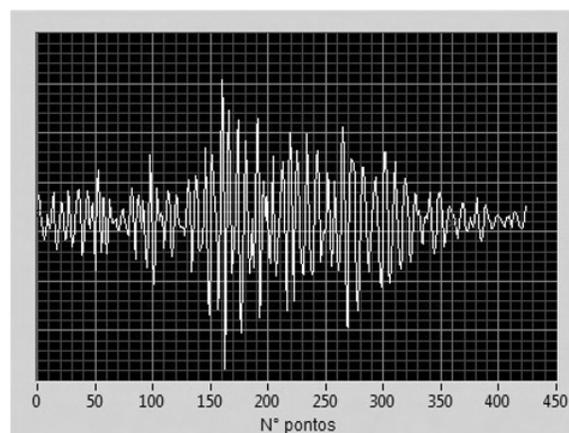


Figura AII.5 – Sinal BM para uma amostra de CBC I (correspondente à Figura V.23).

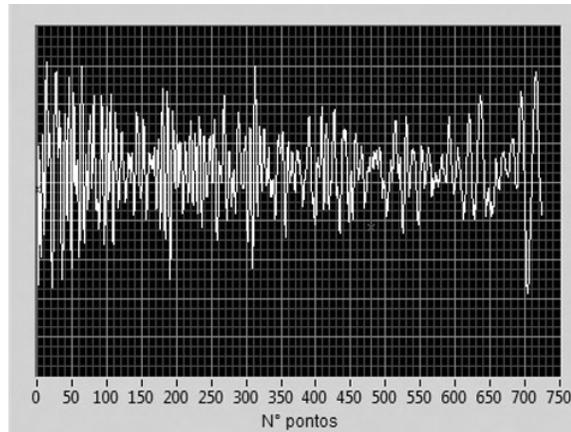


Figura AII.6 – Sinal BM para uma amostra de CEC (correspondente à Figura V.24).

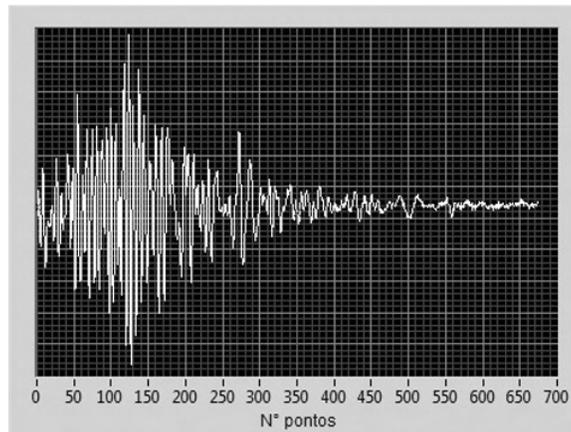


Figura AII.7 – Sinal BM para uma amostra de DB (correspondente à Figura V.25).

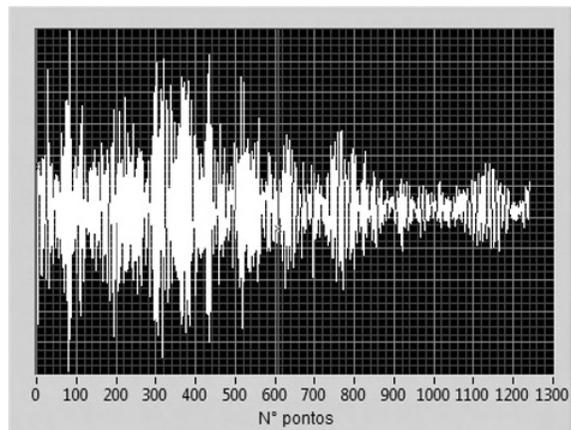


Figura AII.8 – Sinal BM para uma amostra de CA (correspondente à Figura V.26).

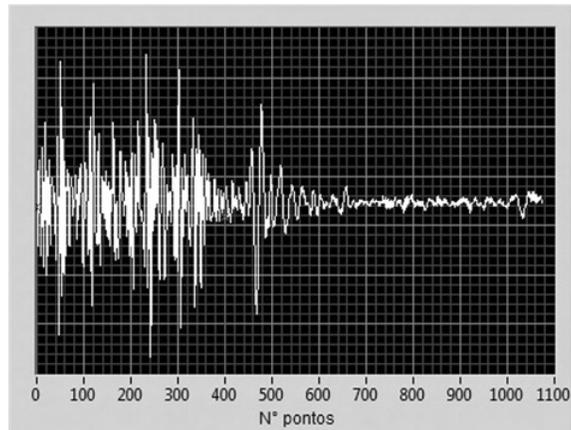


Figura AII.9 – Sinal BM para uma amostra ST (correspondente à Figura V.27).

2. Curvas de Atenuação para os diferentes grupos de tecidos.

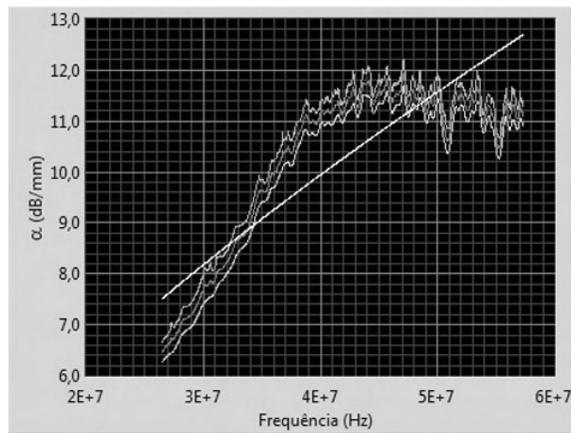


Figura AII.10 – Valores de α (média \pm coeficiente de variação) e curva ajustada para uma amostra de CBC S.

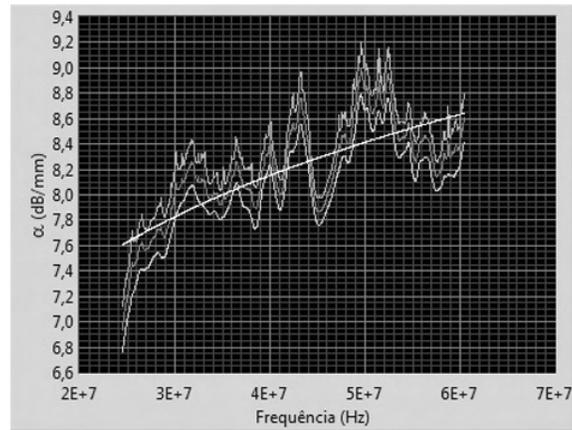


Figura AII.11 – Valores de α (média \pm coeficiente de variação) e curva ajustada para uma amostra de CBC N1.

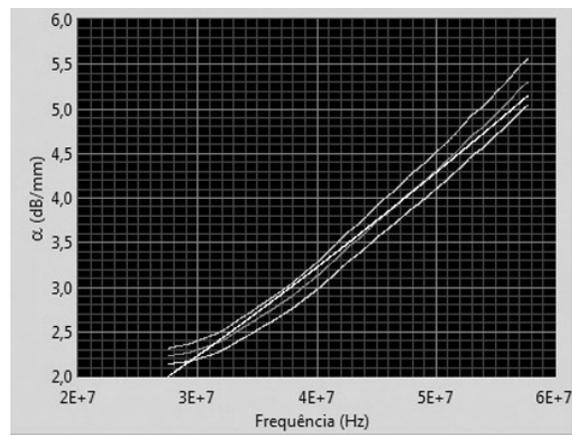


Figura AII.12 – Valores de α (média \pm coeficiente de variação) e curva ajustada para uma amostra de CBC N2.

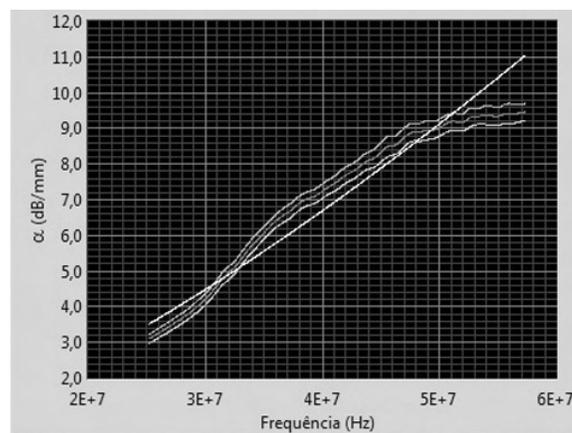


Figura AII.13 – Valores de α (média \pm coeficiente de variação) e curva ajustada para uma amostra de CBC N3.

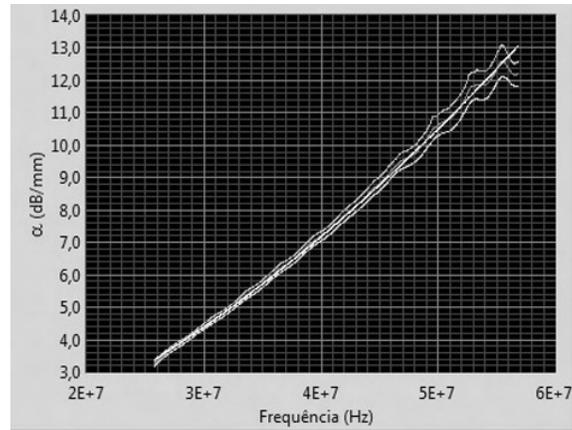


Figura AII.14 – Valores de α (média \pm coeficiente de variação) e curva ajustada para uma amostra de CBC I.

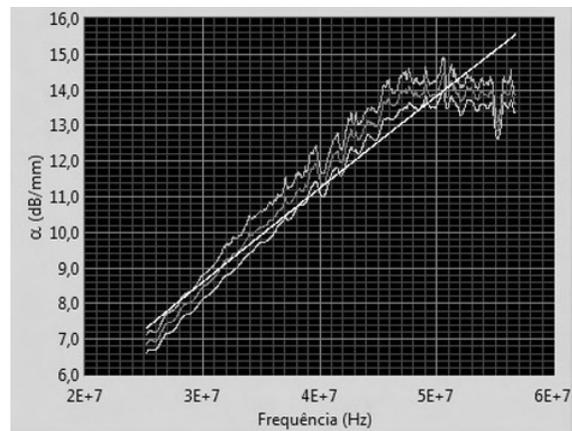


Figura AII.15 – Valores de α (média \pm coeficiente de variação) e curva ajustada para uma amostra de CEC.

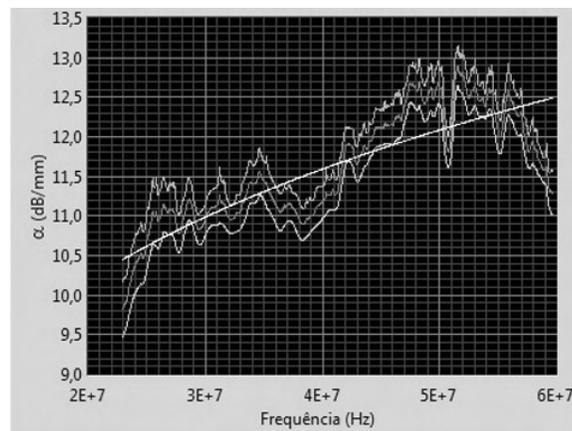


Figura AII.16 – Valores de α (média \pm coeficiente de variação) e curva ajustada para uma amostra de DB.

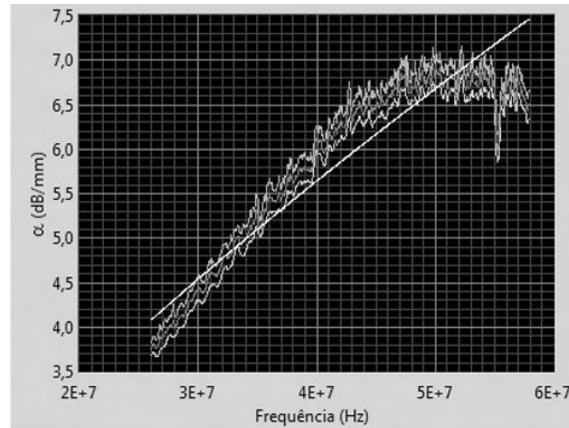


Figura AII.17 – Valores de α (média \pm coeficiente de variação) e curva ajustada para uma amostra de CA.

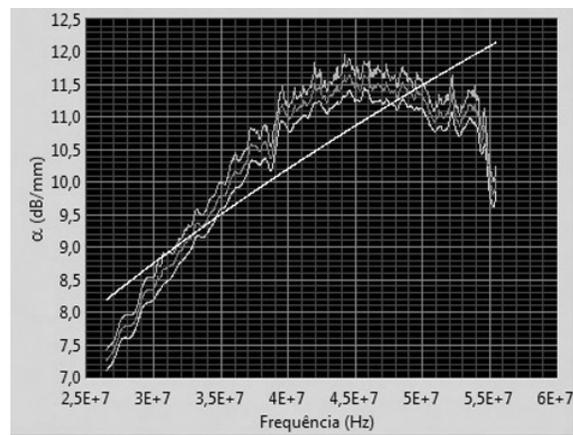


Figura AII.18 – Valores de α (média \pm coeficiente de variação) e curva ajustada para uma amostra ST.

3. Histogramas e curvas de PDF para diferentes grupos de tecido.



Figura AII.19 – Histograma e curvas de PDF ajustadas para uma amostra de CBC S. Neste caso não houve um ajuste da PDF Nakagami. Branco: histograma; Vermelho: GG; Verde: Weibull; Azul: de Nakagami.



Figura AII.20 – Histograma e curvas de PDF ajustadas para uma amostra de CBC N1. Branco: histograma; Vermelho: GG; Verde: Weibull; Azul: Nakagami.



Figura AII.21 – Histograma e curvas de PDF ajustadas para uma amostra de CBC N2. Branco: histograma; Vermelho: GG; Verde: Weibull; Azul: Nakagami.



Figura AII.22 – Histograma e curvas de PDF ajustadas para uma amostra de CBC N3. Branco: histograma; Vermelho: GG; Verde: Weibull; Azul: Nakagami.



Figura AII.23 – Histograma e curvas de PDF ajustadas para uma amostra de CBC I. Neste caso não houve um ajuste da PDF Nakagami. Branco: histograma; Vermelho: GG; Verde: Weibull; Azul: Nakagami.

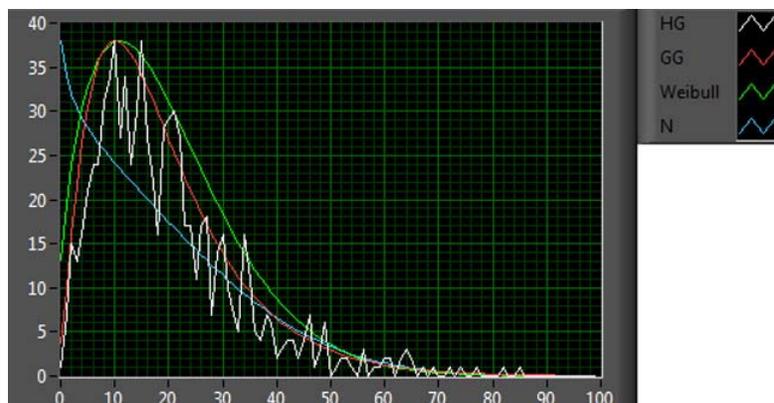


Figura AII.24 – Histograma e curvas de PDF ajustadas para uma amostra de CEC. Neste caso não houve um ajuste da PDF Nakagami. Branco: histograma; Vermelho: GG; Verde: Weibull; Azul: Nakagami.

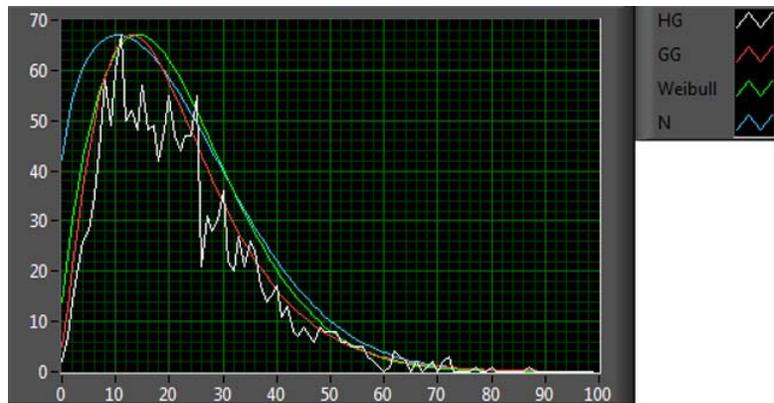


Figura AII.25 – Histograma e curvas de PDF ajustadas para uma amostra de DB. Branco: histograma; Vermelho: GG; Verde: Weibull; Azul: Nakagami.



Figura AII.26 – Histograma e curvas de PDF ajustadas para uma amostra de CA. Branco: histograma; Vermelho: GG; Verde: Weibull; Azul: Nakagami.



Figura AII.27 – Histograma e curvas de PDF ajustadas para uma amostra ST. Branco: histograma; Vermelho: GG; Verde: Weibull; Azul: Nakagami.