

COEFICIENTE DE RETRO-ESPALHAMENTO DE ULTRA-SOM EM PSEUDO-ARTROSE *IN VITRO* DE COBAIAS

D.P. Matusin*, C. B. Machado*, M.A. von Krüger*, W. Gómez***, M. L. Ferreira***, A. Schanaider*** e W.C.A. Pereira*

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

**Departamento de Ingeniería Eléctrica – CINVESTAV-IPN, México D.F., México

***Depto. de Cirurgia Experimental – Faculdade de Medicina – CCS/UFRJ, Rio de Janeiro, Brasil

e-mail: dpatter@hotmail.com wagner@peb.ufrj.br mavk@peb.ufrj.br

Abstract: The evolution of fracture consolidation and the diagnosis pseudo-arthritis are often accompanied with conventional radiographies. Quantitative ultrasound characterization can be a good non-ionization method for this purpose. Among many parameters, Integrated Backscatter Coefficient (IBC) shows to be more sensible for subtle micro-architecture changes presented in tissues. The IBC of a rat femur with pseudo-arthritis was estimated and compared to the diaphysis IBC of the same bone. Initial results show the acquisition method to be statistically reproducible. It was possible to detect significant IBC differences between normal bone and pseudo-arthritis.

Palavras-chave: ultra-som, caracterização, pseudo-artrose.

Introdução

Habitualmente, o acompanhamento da evolução de consolidações de fraturas se dá através de radiografias simples. Porém, há um interesse crescente na utilização do ultra-som em acometimentos do tecido ósseo por ser um procedimento não invasivo, de baixo custo e utilizar uma radiação não-ionizante [1].

A análise quantitativa da interação do ultra-som (US) com o meio biológico pode fornecer informações importantes a respeito das características normais e patológicas dos tecidos, bem como a evolução da doença pelas modificações de parâmetros acústicos [2].

O coeficiente de retro-espalhamento quantifica a energia ultra-sônica que retorna ao transdutor emissor. É medido em $Sr^{-1}mm^{-1}$ (Sr = esferorradianos) e pode ser modelado como se produzido por um espalhador esférico elástico [3]. Este coeficiente é largamente utilizado para a caracterização de tecidos *in vitro* e *in vivo* como hepático [2,4,5], dérmico [6,7], cardíaco [8], tendinoso [9] e ósseo [10].

Diversos trabalhos foram realizados com o intuito de explorar as características acústicas do osso trabecular [11, 12, 13]. No entanto, pouco se conhece sobre as características acústicas do local da regeneração de uma fratura ou da pseudo-artrose.

Barbieri *et al.* [14] avaliaram a velocidade de propagação do ultra-som durante a evolução da consolidação de fratura em tíbias de carneiro e concluíram que ela aumenta, à medida que esta se desenvolve. Métodos acústicos não-lineares se mostraram sensíveis à micro-lesões, que são uma pré-disposição à fratura óssea [15]. Comparando o US quantitativo com a densitometria óssea (raios-X) em humanos com fator de risco de osteoporose [16], houve grande correlação entre as medições daquela com o coeficiente de atenuação e velocidade de propagação ultra-sônicas. Entre os parâmetros quantitativos de US, o coeficiente de retro-espalhamento demonstrou ser o mais sensível a variações da densidade do osso [13].

A pseudo-artrose é a não-consolidação óssea entre os fragmentos de uma fratura. A regeneração da fratura depende de um processo complexo de diferentes fases (formação de hematoma, inflamação, angiogênese, formação de cartilagem e remodelação óssea) [17]. Durante a fase de formação de cartilagem, esta é gradualmente substituída por tecido ósseo.

O presente estudo apresenta uma primeira investigação sobre a caracterização da pseudo-artrose por retro-espalhamento ultra-sônico.

Materiais e Métodos

Amostra – Foi utilizado um rato *Wistar* como modelo animal. A pseudo-artrose foi produzida cirurgicamente na diáfise do fêmur. O protocolo cirúrgico usado foi: (a) realização de uma fratura; (b) colocação da musculatura do tensor da fáscia lata entre os fragmentos ósseos, para evitar a consolidação óssea; (c) ligação dos fragmentos com linha cirúrgica, fazendo dois pequenos furos próximos ao local da fratura. Finalmente, o animal foi sacrificado para análise histológica (que comprovou a presença de pseudo-artrose) e para a dissecação do fêmur.

Aquisição dos sinais - Os sinais, gerados por placa Matec SR9000, foram adquiridos com transdutor de frequência central 4,2 MHz, banda passante de 3,6 a 5 MHz (*Panametrics*, V326, 10 mm de diâmetro e 85 mm de distância focal) imerso em soro fisiológico. A

amostragem do sinal foi feita por osciloscópio Tektronix (TDS 2024B), a 100 MHz.

O fêmur foi disposto sobre um refletor plano de aço polido, perpendicular à face do transdutor e em seguida, posicionado à distância focal. Foi feita uma varredura ao longo da diáfise do fêmur, com passo de 1 mm (área focal do feixe com 2,5 mm), de acordo com a Figura 1. Um total de oito sinais foi obtido para cada tecido (normal e pseudo-artrose). Para se investigar a repetibilidade do método, a montagem experimental foi por três vezes desmontada e montada, antes de cada ensaio, e os sinais então coletados.

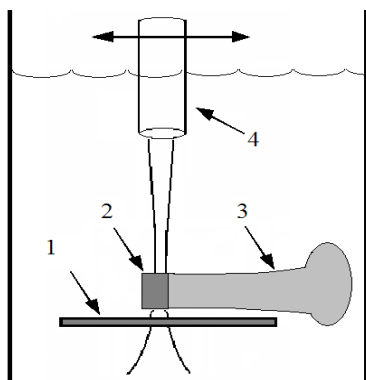


Figura 1: Esquema da montagem experimental: (1) refletor; (2) pseudo-artrose; (3) diáfise; (4) transdutor.

A primeira parte do sinal de espalhamento foi excluída por conter parte da reflexão na interface entre a água e o osso, a partir de então, toda a região do sinal é dividida e destacada utilizando-se janelas *Hamming* de 128 pontos (1,3 μ s) (Figura 2). O eco saturado ao final é advindo da placa.

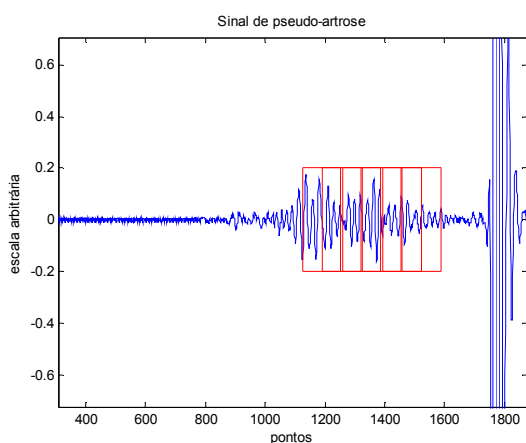


Figura 2: sinal retro-espalhado de pseudo-artrose contendo 6 janelas de 128 pontos, com 50% de intersecção entre elas.

Sinais do refletor em diferentes distâncias da face do transdutor também foram coletados (desde a distância focal, em passos de 1 mm) para servirem de referência às janelas de sinal do tecido que estão a diferentes profundidades. As janelas foram centradas na altura da posição dos refletores e sua duração é

suficiente para gerar uma intersecção de 50% entre elas. Para cada sinal foram consideradas nove janelas.

Coefficiente de retro-espalhamento integrado -

Para a estimação do coeficiente foi implementada a equação (1) utilizada em [3]. A média dos espectros de potência dos sinais provenientes de janelas à mesma profundidade $S_s(f,z)$ é normalizada ao ser dividida pelo espectro de potência do sinal de referência do refletor disposto à mesma distância da janela $S_p(f,z)$. Este procedimento corrige a difração do feixe e a resposta do sistema.

$$\mu(f,z) = \frac{\langle S_s(f,z) \rangle}{S_p(f,z)} \frac{1}{(0.63)^2} \frac{R_p^2 k^2 a^2}{8\pi d \left[1 + \left(\frac{ka^2}{4F} \right)^2 \right]} \quad (1)$$

Onde R_p é a amplitude do coeficiente de reflexão da placa de aço, k é o número de onda, a é o raio do transdutor, d é a dimensão da janela (mm) e F é a distância focal. O termo $1/(0.63)^2$ é usado para compensar a janela *Hamming*.

A unidade do coeficiente $\mu(f,z)$ é apresentada em $\text{sr}^{-1} \text{mm}^{-1}$ que, em seguida, é integrado na banda passante do transdutor, obtendo-se assim o Coeficiente Integrado de Retro-espalhamento (IBC), conforme a equação:

$$IBC = \frac{\int_{f_{\min}}^{f_{\max}} [\eta(f)] df}{f_{\max} - f_{\min}} \quad (2)$$

Não foi realizada correção relacionada à atenuação devida à passagem da onda ao longo do tecido, de modo que os valores de IBC tendem a diminuir em função da profundidade.

O algoritmo foi implementado em Matlab R2007a e aplicado a sinais RF de amostras de fígados humanos sadios e patológicos coletados em montagem experimental semelhante e já publicados [2].

Análise estatística - Foi calculada a média do IBC para cada profundidade, nos três experimentos e comparada entre diáfise e pseudo-artrose. Para avaliar a repetibilidade do método, foi realizado o teste de *Kruskal-Wallis*. O teste de Wilcoxon foi utilizado para testar a hipótese de que os valores de IBC da diáfise e da pseudo-artrose são de amostras independentes ($\alpha < 0,05$).

Resultados

Verificou-se que não há diferença significativa entre os valores dos três experimentos realizados no teste de *Kruskal-Wallis* ($p > 0,05$). Para os sinais da diáfise, o valor p foi de 0,7279 e para as amostras de pseudo-artrose, p de 0,1828. Isso mostra que cada grupo

de três sinais provém da mesma fonte. A Figura 3 mostra os *boxplots* dos IBC's da diáfise (a) e da pseudo-artrose (b) estimados nos três experimentos.

Os valores médios e de desvio-padrão de IBC para os três experimentos estão nas Figuras 4 e 5.

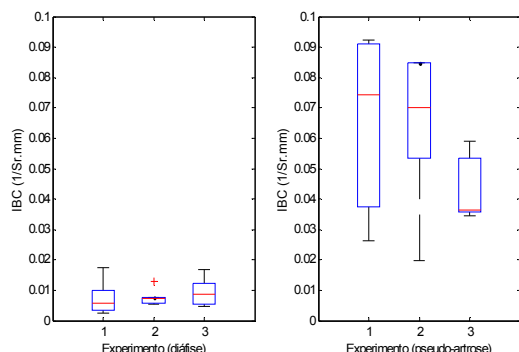


Figura 3: *Boxplots* referentes aos três experimentos com: (a) diáfise; e (b) pseudo-artrose.

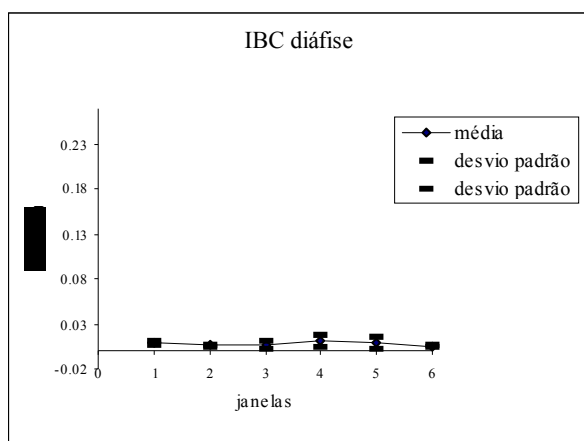


Figura 4: Média e desvio-padrão de IBC para a diáfise nos três experimentos. O eixo-X indica as janelas (da mais próxima à mais distante do transdutor).

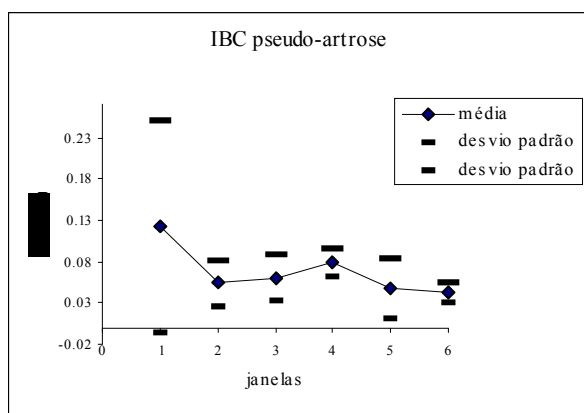


Figura 5: Média e desvio-padrão de IBC para a pseudo-artrose nos três experimentos. O eixo-X indica as janelas (da mais próxima à mais distante do transdutor).

O valor de p obtido com o teste de Wilcoxon ($p = 0,002$) mostra que os valores de IBC originados da diáfise e da pseudo-artrose são realmente extraídos de tecidos diferentes.

Discussão

O objetivo do estudo foi fazer uma primeira avaliação do IBC da pseudo-artrose. A metodologia empregada para coleta de sinais mostrou boa repetibilidade (Figura 3), conforme o valor de $p > 0,05$.

Nos sinais coletados, a parte inicial do eco (duração equivalente à do pulso de excitação) deve ser descartada por estar contaminada pela reflexão na interface entre água/amostra. No caso da diáfise (osso íntegro), o sinal (retroespalhado) que resta após este descarte é de baixa amplitude. Isto se deve ao fato de que a diáfise é composta basicamente por uma espessa camada de densa matriz óssea, não havendo espalhadores no meio [18].

Já na pseudo-artrose, a complexa matriz de tecido possui características da cartilagem e pequenos focos de formação óssea de impedância acústica diferente do meio, gerando mais retroespalhamento, fazendo, portanto, com que os valores de IBC sejam mais altos.

Os estudos que envolvem caracterização de tecido ósseo normalmente costumam utilizar uma frequência central mais baixa, geralmente por volta de 1 MHz [11,12,13], pois se concentram em ossos trabeculares, que possuem um córtex fino e uma região interna rica em trabéculas ósseas. Porém, para avaliar o tecido da pseudo-artrose, que é semelhante ao da cartilagem, quanto maior a frequência do pulso, mais detalhes teremos do tecido [19].

Ao se utilizar uma amostra de tecido com uma superfície plana [2,3], é possível fazer uma varredura em dois eixos, permitindo adquirir um número maior de sinais. Já no presente trabalho, a superfície convexa do osso e suas pequenas dimensões permitiram apenas que fossem coletados sinais ao longo da amostra, fazendo com que o número de sinais fosse bem menor.

Para a estimação de IBC, diversos autores utilizam um termo de correção para compensar a atenuação [3,16] causada pela passagem da onda ao longo do tecido. Nestes experimentos iniciais, optou-se por não utilizar este termo, observando apenas o comportamento de uma forma mais simples.

A proposta de um estudo futuro é realizar experimentos para acompanhar a evolução da consolidação óssea e observar a tendência do valor de IBC à medida que o tecido se densifique e comparar os valores referentes ao calo ósseo com o do osso normal.

Para essa caracterização, a associação com outros parâmetros como velocidade de propagação e coeficiente de atenuação poderia aumentar ainda mais a capacidade de informação sobre o estado do tecido como em [2].

Conclusão

Foi apresentado um estudo inicial de caracterização do retro-espalhamento ultra-sônico em pseudo-artrose *in vitro* de modelo animal.

O método de aquisição de sinal mostrou ser estatisticamente reproduzível e o coeficiente de retro-espalhamento integrado (IBC) foi capaz de perceber a diferença entre o osso íntegro e o com pseudo-artrose. Novos experimentos com uma quantidade maior de amostras de tecido serão realizados. Testes preliminares do uso do método na caracterização *in vivo* de pseudo-artrose já estão em andamento em cobaias.

Agradecimentos

Ao CNPq, à CAPES e à FAPERJ pelo apoio financeiro.

Referências

- [1] Frost, M.L., Blake, G.M., Fogelman, I. (2001) "Quantitative ultrasound and bone mineral density are equally strongly associated with risk factors for osteoporosis" *Journal of Bone and Mineral Research*, v. 16, n.2, p. 406-416.
- [2] Meziri, M., Pereira, W.C.A., Abdelwahab, A., Degott, C., Laugier, P. (2005) "In vitro chronic hepatic disease characterization with a multiparametric ultrasonic approach" *Ultrasonics*, v. 43, n. 5, p. 305-313.
- [3] Roberjot, V., Bridal, L.S. (1996) "Absolute Backscatter Coefficient over a Wide Range of Frequencies in a Tissue-Mimicking Phantom Containing Two Populations of Scatterers" *IEEE Trans. UFFC*, v. 43, n. 5, p. 970-978.
- [4] Zagzebski, J.A., Lu, Z.F., Yao, L.X. (1993) "Quantitative Ultrasound Imaging: *In Vivo* Results in Normal Liver" *Ultrasonic imaging*, v. 15, n. 4, pp. 335-351.
- [5] Gertner, M.R., Wilson, B. C., Sherar, M.D. (1997) "Ultrasound Properties of Liver Tissue During Heating" *Ultrasound in Med. & Biol.*, v. 23, n. 9, p. 1395-1103.
- [6] Lebertre, M., Ossant, F., Vaillant, L., Diridollou, S., Patat, F. (2002) "Spatial Variation of Acoustic Parameters in Human Skin: an *In Vitro* Study Between 22 and 45 MHz" *Ultrasound in Med. & Biol.*, v. 28, n. 5, p. 599-615.
- [7] Moran, C.M., Bush, N.L., Bamber, J.C. (1995) "Ultrasonic Propagation Properties of Excised Human Skin" *Ultrasound In Med. & Biol.*, v. 21, n. 9, p. 1177-1190.
- [8] Baldwin, S. L., Marutyan, K. R., Yang, M., Wallace, K.D., Holland, M.R., Miller, J. G. (2005) "Estimating Myocardial Attenuation from M-Mode Ultrasonic Backscatter" *Ultrasound in Med. & Biol.*, Vol. 31, No. 4, pp. 477-484.
- [9] Garcia, T., Hornof, W.J., Insana, M.F. (2003) "On The Ultrasonic Properties of Tendon" *Ultrasound In Med. & Biol.*, v. 29, n. 12, p. 1787-1797.
- [10] Raju, B.I., Srinivasan, M.A. (2001) "High-Frequency Ultrasonic Attenuation and Backscatter Coefficients of *In Vivo* Normal Human Dermis and Subcutaneous Fat" *Ultrasound In Med. & Biol.*, v. 27, n. 11, p. 1543-1556.
- [11] Chaffai, S., Peyrin, F., Nuzzo, S., Porcher, R., Berger, G., Laugier, P. (2002) "Ultrasonic characterization of Human Cancellous Bone Using Transmission and Backscatter Measurements: Relationships to Density and Microstructure" *Bone*, v. 30, n. 1, p. 229-237.
- [12] Hakulinen, M.A., Töyräs, J., Saarakkala, S., Hirvonen, J., Kröger, H., Jurvelin, J.S. (2007) "Ability of Ultrasound Backscattering to Predict Mechanical Properties of Bovine Trabecular Bone" *Ultrasound In Med. & Biol.*, v. 30, n. 7, p. 919-927.
- [13] Wear, K. A., Stuber, A. P., Reynolds, J. C. (2000) "Relationships of Ultrasonic Backscatter with Ultrasonic Attenuation, Sound Speed and Bone Mineral Density in Human Calcaneus" *Ultrasound in Med. & Biol.*, Vol. 26, No. 8, pp. 1311-1316.
- [14] Barbieri, G., Barbieri, C.H., Matos, P.S., Pelá, C. A., Mazzer, N. (2006) "Ultrasonometric Evaluation of Bone Healing: Experimental Study Using a Model of Diaphyseal Transverse Osteotomy of Sheep Tibiae" *Ultrasound in Med & Biol*, v. 32, n. 6, p. 875-882.
- [15] Muller, M., Mitton, D., Talmant, M., Johnson, P., Laugier, P. (2008) "Nonlinear ultrasound can detect accumulated damage in human bone" *J. of Biomechanics*, v. 41, n. 5, p. 1062-1068.
- [16] Couture, O., Bevan, P., D., Cherin, E., Cheung, K., Burns, P., N., Foster, F., S. (2006) "Investigating Perfluorhexane Particles with High-Frequency Ultrasound". *Ultrasound in Med & Biol.*, v. 32, n. 1, p. 73-82.
- [17] Phillips, A. M. (2005) "Overview of the fracture healing cascade", *Injury*, v. 36S, p. S5-S7.
- [18] Nicholson, P.H.F., Strelitzki, R., Cleveland, R.O., Bouxsein, M.L. (2000) "Scattering of ultrasound in cancellous bone: predictions from a theoretical model" *J. of Biomechanics* v. 33, pp. 503-506
- [19] Fortin, M., Buschmann, M.D., Bertrand, M.J., Foster, F.S., Ophir, J. (2003) "Dynamic measurement of internal solid displacement in articular cartilage using ultrasound backscatter" *J. of Biomechanics*, v.36, No., pp. 443-447.