

Comparações preliminares entre a histologia virtual ultrassonográfica *in vivo* e os achados histopatológicos da placa carotídea produto de endarterectomia

Preliminary comparisons between in vivo ultrasonographic virtual histology and histopathological findings of endarterectomized carotid plaque

Fábio Hüsemann Menezes¹, Thiago do Carmo Silveira², Sandra Aparecida Ferreira Silveira³, Sérgio Xavier Salles-Cunha⁴, Konradin Metzke⁵, Ana Sílvia Carvalho de Menezes⁶

Resumo

Contexto: A doença aterosclerótica da carótida extracraniana é uma das principais causas evitáveis de acidente vascular cerebral isquêmico (AVCi), sendo este a segunda causa mais comum de morte nos países desenvolvidos. Nos grandes estudos sobre a cirurgia carotídea, a indicação estava embasada fundamentalmente no grau de estenose arterial. Analisar somente o grau de estenose, entretanto, não revela todas as características da placa, na medida em que a morfologia e a composição da placa complementam a avaliação da doença carotídea avançada e são fundamentais para a análise e o acompanhamento da maioria das placas carotídeas tratadas clinicamente. **Objetivo:** Correlacionar a caracterização dos componentes da placa de ateroma pela histologia virtual ultrassonográfica (HVUS) com a histologia. **Métodos:** As imagens pré-operatórias obtidas por ultrassonografia transcutânea de 12 placas de ateroma de bifurcação carotídea foram submetidas a um programa de computador, o qual correlacionou os níveis de cinza com os prováveis componentes da placa da bifurcação carotídea (HVUS). Estes achados foram correlacionados com o exame anatomopatológico das placas coletadas pela cirurgia de endarterectomia. **Resultados:** O coeficiente de correlação de Pearson para os conteúdos de lipídeos e músculo/tecido fibroso foram, respectivamente, $R=0,83$ para gordura e $R=0,91$ para músculo/tecido fibroso. Quanto ao cálcio e ao sangue, foram $R=0,05$ e $R=0,19$, respectivamente. **Conclusões:** O presente trabalho corrobora a literatura demonstrando que a histologia virtual computadorizada baseada em ultrassonografia transcutânea apresenta boa correlação com os achados da histologia quanto ao conteúdo da placa. Maiores estudos para a padronização da técnica e o aperfeiçoamento do programa de análise permitirão maior uso clínico deste método.

Palavras-chave: aterosclerose carotídea; histologia; ultrassonografia.

Abstract

Background: Extracranial carotid artery atherosclerosis is a major preventable cause of strokes, the second most common cause of death in developed countries. The degree of arterial lumen stenosis is the basis for surgical indications, but does not provide information about other plaque aspects. Studies in the literature suggest that the morphological characteristics of the plaque and its composition should also be included in the assessment of this disease. **Objective:** Investigate the correlation between atherosclerotic plaque composition defined by computer-assisted analysis of ultrasound images (virtual histology - USVH) and conventional histology. **Methods:** The images of twelve plaques, obtained during preoperative ultrasound scanning, were analyzed by computer, and the grey scale images were correlated with the plaque components and subsequently compared with the histological findings of the analysis of the endarterectomy specimens. **Results:** The amount of lipids and fibromuscular tissue were strongly correlated in the two tests ($R=0.83$ and 0.91). There were no significant correlations with amount of blood or calcium ($R=0.05$ and 0.19). **Conclusion:** This study confirmed the usefulness of noninvasive USVH. Further technical improvements and software developments may promote the clinical application of this method.

Keywords: atherosclerosis; carotid; histology; ultrasound.

¹ Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Faculdade de Ciências Médicas, Departamento de Cirurgia, Campinas, SP, Brasil.

² Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Faculdade de Ciências Médicas, Campinas, SP, Brasil.

³ Clínica Privada, Campinas, SP, Brasil.

⁴ Consultor independente sem vínculo institucional.

⁵ Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Faculdade de Ciências Médicas, Departamento de Anatomia Patológica, Campinas, SP, Brasil.

⁶ Laboratório de Patologia Menezes, Campinas, SP, Brasil.

Fonte de financiamento: Houve financiamento do autor Thiago do Carmo Silveira – bolsa de iniciação científica pelo programa PIBIC/CNPq para alunos de iniciação científica da UNICAMP.

Conflito de interesse: Os autores declararam não haver conflitos de interesse que precisam ser informados.

Submetido em: 10.02.13. Aceito em: 29.04.13.

O trabalho foi realizado na Clínica Privada da Dra. Sandra Aparecida Ferreira Silveira e no Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)

O presente projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp em reunião plenária no dia 22 de junho de 2010, recebendo número 490/2010.

O presente trabalho não foi registrado como ensaio clínico.

■ INTRODUÇÃO

A doença aterosclerótica da carótida extracraniana é uma das principais causas evitáveis de acidente vascular cerebral (AVC), sendo este a segunda causa mais comum de morte nos países desenvolvidos, atingindo 4,5 a 5 milhões de óbitos por ano^{1,2}. Cerca de 50% a 80% de todos os AVCs são isquêmicos^{1,3}. Dentre estes, 15% a 50% dos acidentes isquêmicos decorrem da produção de êmbolos e trombos pela placa aterosclerótica localizada na bifurcação da carótida extracraniana¹⁻⁶. Entretanto, nem toda placa com estenose acentuada se torna sintomática e resulta em AVC ou ataque isquêmico transitório (AIT), levantando o questionamento da indicação cirúrgica em pacientes assintomáticos⁷.

Os grandes estudos ACAS⁸, NASCET⁹, ECST¹⁰, ACST¹¹ e CREST¹² utilizaram-se do grau de estenose da carótida para a decisão sobre a indicação cirúrgica. Atualmente, a caracterização da estenose da carótida é feita por métodos de imagens, como ultrassonografia dúplex (US) e angiografia, seja esta por subtração digital (DAS), angiotomografia (CT) ou angioresonância magnética nuclear (RMN). Embora haja a possibilidade do estudo do conteúdo da placa de ateroma por vários destes métodos, a maioria dos autores busca nestes exames apenas as características da estenose anatômica da placa, sendo pouco discutidas a caracterização morfológica e a composição da placa^{3,5}. Outras técnicas de imagem complementares, tais como a tomografia por emissão de pósitrons (PET) e a tomografia computadorizada por emissão de fóton único (SPECT), podem ser adjuvantes no seguimento da doença. Todavia, apesar de promissoras, são caras e com acesso limitado^{2,13-15}.

Somente a análise do grau de estenose vem se demonstrando limitada na avaliação da estabilidade das placas, porque vários processos moleculares (inflamação, acúmulo de lipídeos, proteólise, apoptose, angiogênese e trombose, por exemplos) têm se mostrado, independentemente do grau de estenose, estar associados com a *vulnerabilidade da placa*, a qual se torna mais propensa a embolização e trombose (conceito de placa instável). Essa vulnerabilidade tem como características: ulcerações na placa; grande quantidade de lipídeos; pequena espessura da capa de fibrose entre o núcleo lipídico e a luz arterial; núcleos da placa com a presença de necrose, e a presença de hemorragia intraplaca. Por outro lado, placas com alto teor fibroso e mais calcificadas podem estar associadas a um menor risco de AVC (conceito de placa estável). Logo, características morfológicas das placas e sua composição devem ser um complemento na

avaliação da doença aterosclerótica, somando-se ao conhecimento do estreitamento luminal^{3,13,16,17}.

As características morfológicas das placas de ateroma que têm sido mais estudadas são: aspecto da superfície; ecogenicidade; distribuição do conteúdo da placa em relação à superfície e grau de heterogeneidade; volume da placa, e movimentação da parede arterial.

Em relação à ecogenicidade das placas, estas podem ser divididas em ecolucentes (predomínio de cores escuras) e ecogênicas (predomínio de cores claras), de acordo com a quantidade de lipídeos (atenuam os ecos e são mais escuras) ou de tecido fibroso (refletem mais ecos e são mais claras). A avaliação da ecogenicidade da placa é realizada de forma visual pelo ultrassonografista, que classifica a placa em uniformemente ecolucente, predominantemente ecolucente, predominantemente ecogênica, uniformemente ecogênica, densamente calcificada e não classificável⁷. Também pode ser analisada a mediana da distribuição do valor do brilho dos pontos da imagem na escala de cinza, conhecida como *Gray Scale Median (GSM)*, que expressa se a placa é mais ou menos ecogênica. A mediana da escala de cinza é o ponto médio do histograma gerado pelos píxeis da imagem ultrassonográfica e distribuído de acordo com o brilho ou ecogenicidade. Nicolaidis¹⁸ considera que o valor que define uma placa ecogênica é o GSM maior do que 32, embora em trabalho mais recente tenha considerado o valor de corte para definir placas com alto teor lipídico em 14¹⁹. Outros autores sugerem um valor de corte muito mais alto para separar placas ecogênicas e ecolucentes, como 74²⁰.

Há interesse em classificar a placa de forma automatizada e objetiva, facilitando a avaliação e a identificação dos diferentes tipos de conteúdo, como do núcleo necrótico, da capa fibrosa, de áreas de hemorragia, etc. Para tanto, está sendo desenvolvido um programa de computador que procura identificar e quantificar em imagens, obtidas por ultrassonografia, o cálcio, os lipídeos, o tecido fibromuscular e o sangue na placa aterosclerótica carotídea, conforme o brilho dos píxeis da imagem, seguindo a classificação proposta por Lal et al.²⁰ (Figura 1). O objetivo deste estudo é comparar em um estudo piloto inicial os achados da placa estudada *in vivo* e analisada pelo computador, com a análise anatomopatológica da mesma placa coletada por endarterectomia.

■ MÉTODO

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Instituição recebendo o número 490/2010, segundo as normas do Ministério da

Saúde (Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 196 de 10/10/96 sobre pesquisa envolvendo seres humanos. DOU 1996 Out 16; nº 201, seção 1:21082-21085). Doze pacientes foram informados do estudo e convidados a participar. Os dados dos pacientes estão contidos na Tabela 1. Após assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, foram submetidos à realização de uma ultrassonografia em Modo B da artéria carótida no pré-operatório (ultrassonografia *in vivo*), dentro da semana que antecedeu à cirurgia, sempre pelo mesmo examinador e no mesmo aparelho de ultrassonografia (Sonoline G40, transdutor linear VF 10-5 MHz, Siemens Ltda.,

Munique, Alemanha), registrando-se em formato JPEG a imagem em corte longitudinal do ponto de maior estreitamento luminal produzido pela placa.

Na sequência, os pacientes foram submetidos à cirurgia de endarterectomia da bifurcação carotídea. Todas as cirurgias foram realizadas pela mesma equipe cirúrgica, com um mesmo padrão de técnica (anestesia geral, cervicotomia longitudinal, endarterectomia pela técnica de eversão parcial descrita previamente^{21,22}). A placa foi removida em bloco, procurando-se mantê-la sem fragmentação ou significativa alteração de sua estrutura original.

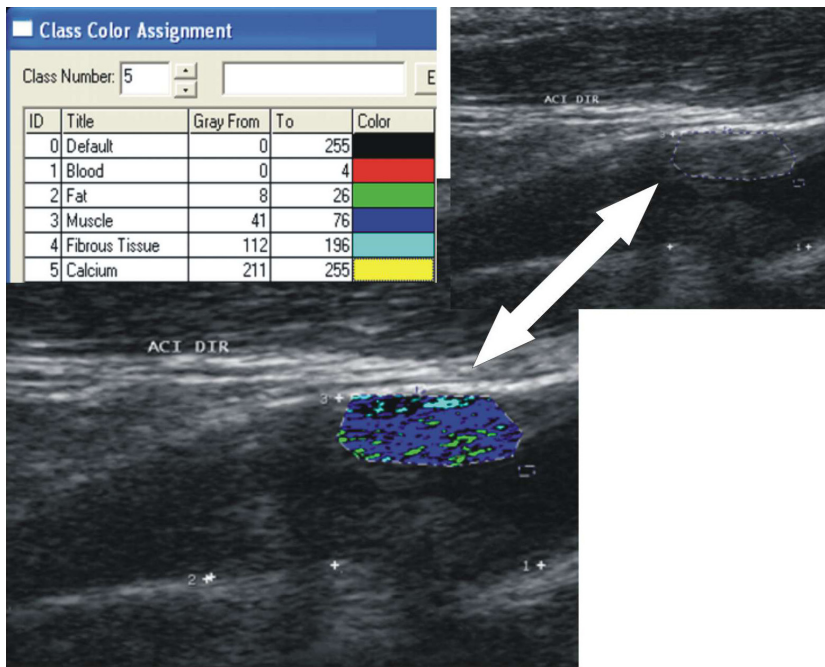


Figura 1. Imagens ilustrativas da classificação de uma imagem ultrassonográfica em modo B de acordo com o brilho dos pixels e seguindo a recomendação de Lal et al.²⁰.

Tabela 1. Dados epidemiológicos relativos aos pacientes estudados.

Paciente	Sexo	Idade	Sintomático	Doença Cardíaca	Doença Pulmonar	Doença Renal	Diabetes	HAS	Tabagismo
1	M	72	SIM	X	X	X	X	X	X
2	M	66	SIM	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	ex-fumante
3	M	71	SIM	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	SIM	ex-fumante
4	F	75	SIM	SIM	NÃO	NÃO	NÃO	SIM	ex-fumante
5	M	75	SIM	NÃO	NÃO	NÃO	SIM	SIM	ex-fumante
6	M	81	SIM	SIM	NÃO	NÃO	SIM	SIM	nunca
7	M	79	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	ex-fumante
8	M	82	SIM	SIM	NÃO	NÃO	NÃO	SIM	ex-fumante
9	M	79	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	SIM	NÃO	ex-fumante
10	M	88	NÃO	SIM	NÃO	NÃO	NÃO	SIM	ex-fumante
11	M	65	SIM	SIM	NÃO	NÃO	NÃO	SIM	ex-fumante
12	F	78	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	SIM	nunca

A preparação das peças para a realização dos cortes histológicos foi realizada pelo Laboratório de Anatomia Patológica da Instituição, seguindo os padrões habituais (fixação em formol, descalcificação e inclusão em bloco de parafina). Os blocos foram cortados em cortes transversais, numa espessura de 3 a 4 mm, e corados com hematoxilina e eosina, e pela coloração de Masson.

O estudo histológico das lâminas foi feito por dois patologistas experientes, que desconheciam os resultados da ultrassonografia. Não foi realizada comparação interobservadores entre os achados dos dois patologistas, uma vez que os patologistas examinaram grupos diferentes de lâminas. Determinou-se o local de estudo avaliando-se visualmente os cortes transversais e selecionando-se o corte com o maior volume da placa e a maior estenose da luz arterial. As amostras de tecidos foram analisadas quanto a lipídeos, tecido fibromuscular, sangue e cálcio. Logo em seguida, as áreas delimitadas pelos patologistas foram planimetradas no programa DicomWorks® v1.3.5 (2001), que permitiu a quantificação da porcentagem de cada componente constituinte da placa em relação à área total.

Posteriormente, submeteu-se a imagem ultrassonográfica à análise pelo computador,

conjuntamente por dois membros da equipe que não haviam realizado a ultrassonografia; eles escolhiam visualmente a melhor imagem e o ponto de máximo estreitamento luminal para a quantificação dos componentes da placa aterosclerótica carotídea, seguindo a classificação de Lal et al.²⁰. A seleção da imagem ultrassonográfica em corte longitudinal foi feita por critério de qualidade e representatividade da doença. Dentro de cada imagem longitudinal feita pelo ultrassom, delimitou-se um corte correspondente ao local do corte histológico por meio do critério visual do local de máxima estenose arterial, facilitado pela delimitação da área com fluxo pelo Doppler colorido. Cada corte escolhido foi analisado quanto à composição relativa de sangue, cálcio, gordura e tecido fibromuscular. Também foi calculada a mediana da escala de cinza (GSM) para cada corte.

Os dados obtidos foram tabulados em planilha eletrônica (Excel – Microsoft 2003) e submetidos à análise estatística, por meio do coeficiente de correlação de Pearson, do grau de concordância entre os achados pelo ultrassom e pela histologia quanto à composição da placa. A Figura 2 apresenta imagens ilustrativas de um caso estudado.

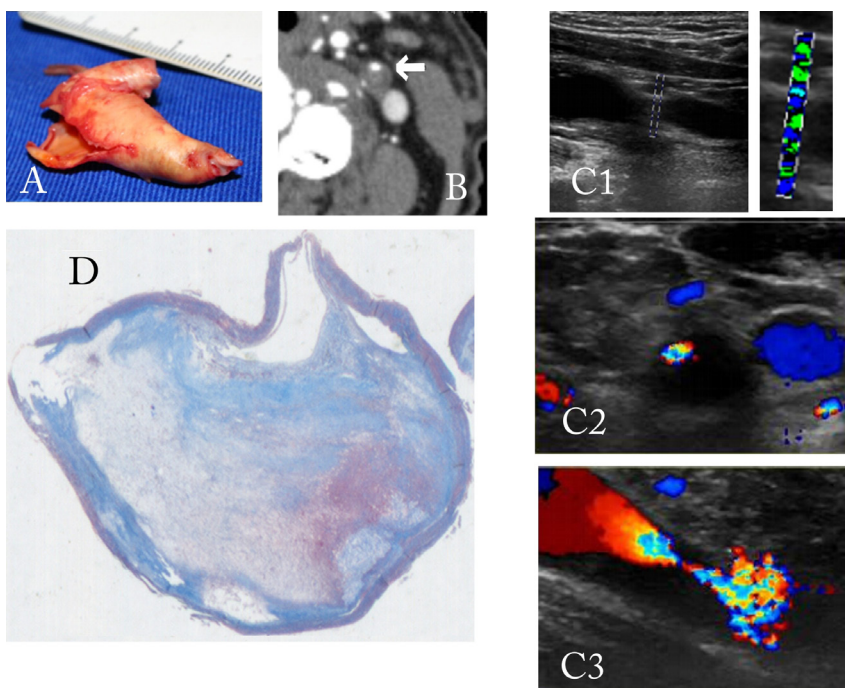


Figura 2. Imagem ilustrativa de um caso do presente estudo. A: observa-se a placa produto de endarterectomia tentando-se manter intacta a área a ser analisada pelo exame anatomopatológico. B: imagem da angiografia demonstrando o grau de estenose da carótida interna (seta branca). C1: área de máxima estenose luminal em corte longitudinal e a área da imagem selecionada para análise pela histologia virtual. C2: mesma área em corte transversal; observar a boa correlação de área da placa com a imagem da histologia. C3: localização da área de máxima estenose luminal com auxílio do Doppler colorido.

RESULTADO

A Figura 3 apresenta um exemplo de análise pelo programa de computador de uma imagem ultrassonográfica da bifurcação carotídea. Após a padronização do ganho (atribui-se o valor zero para o sangue e o valor 200 para a adventícia arterial), é delimitada uma área da imagem e o programa calcula o valor do GSM e a classificação por cores de cada ponto dentro da imagem, segundo a classificação proposta. A Tabela 2 apresenta os achados percentuais para cada componente da placa de ateroma em relação à análise de computador e ao achado anatomopatológico. Observa-se que a correlação de gordura e tecido fibromuscular mostrou-se significativa: $R=0,82$ e $R=0,9$ respectivamente. Diversamente, quanto ao cálcio e ao sangue, não se encontrou correlação significativa ($R=0,04$ e $R=0,19$, respectivamente). Observam-se ainda os valores de GSM variando de 20 a 69, sendo estes concordantes quanto às características das placas tanto na análise ultrassonográfica como pelo estudo histopatológico,

uma vez que as placas cujos GSM eram mais baixos foram caracterizadas como mais lipídicas. O valor médio do GSM dos pacientes assintomáticos foi 52,3 e, para os pacientes sintomáticos, foi 33,9 ($p=0,122$); esses valores mostram-se consistentes com a literatura, na qual os pacientes assintomáticos apresentam valores de GSM mais altos, embora sem ter alcançado significado estatístico em razão do pequeno tamanho amostral.

DISCUSSÃO

O presente trabalho piloto sugere uma boa correlação entre os achados da análise da ecogenicidade (histologia virtual) com os achados do exame anatomopatológico, demonstrando o potencial da técnica para o estudo da composição da placa de ateroma *in vivo*²⁰.

A quase totalidade dos estudos sobre histologia virtual foi realizada pela ultrassonografia intravascular^{20,23} e apresenta alta correlação entre as imagens do ultrassom e os componentes da

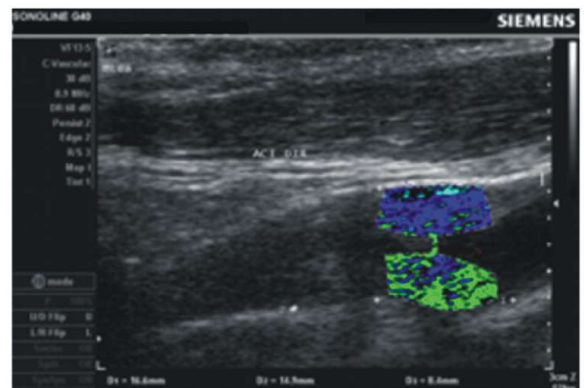
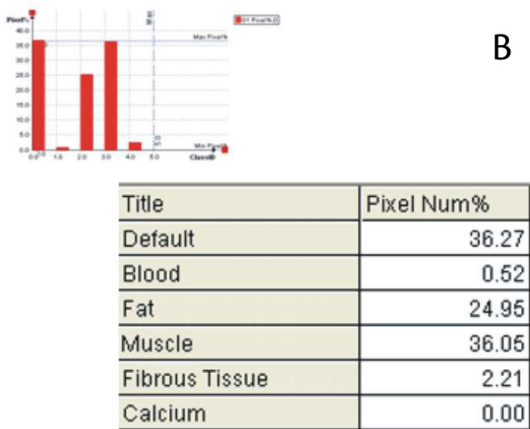
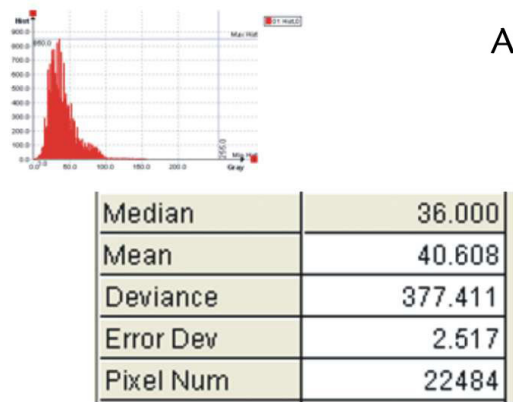


Figura 3. A: Cálculo do GSM (mediana da escala de cinza) em área demarcada da placa de ateroma. B: Classificação do brilho dos pixels na mesma imagem segundo a classificação de Lal et al.²⁰; observar que o programa fornece o percentual de cada tipo de tecido esperado na imagem.

Tabela 2. Achados (expressos em percentuais) em relação ao conteúdo da placa de atheroma estudados pelo anatomopatológico (AP) e avaliação da imagem ultrassonográfica pelo programa de computador (US).

Placa	Elemento estudado								GSM
	Sangue		Cálcio		Tecido Fibromuscular		Lipídeo		
	AP	US	AP	US	AP	US	AP	US	
1	0	0	12,5	1,6	75,0	82,0	12,5	16,3	56
2	0	20,3	16,7	0,2	25,0	36,0	58,3	43,5	25
3	7,7	6,10	15,4	0	15,4	15,1	61,5	78,8	20
4	22,6	8,12	6,5	0,2	29,0	44,2	41,9	47,5	34
5	20,7	10,4	10,3	0	6,9	30,2	62,1	59,4	24
6	0	0,26	0	0,8	89,9	77,6	10,1	2 21,4	44
7	0	0	0	0	56,7	50,5	43,3	49,0	34
8	0	0	2	0	61,9	51,8	36,1	48,2	37
9	0	0	0	0	78,1	99,9	21,9	0,1	65
10	0	19,7	28,9	0	59,3	51,7	11,8	28,6	41
11	0	8,2	0	0	30,1	42,9	69,9	48,9	31
12	0	0	5,19	0	90,3	95,5	4,5	4,5	69
Coefficiente de Pearson	0,192737		0,046033		0,907354		0,828443		

GSM: mediana da escala de cinza da imagem ultrassonográfica. A última linha expressa a correlação entre os achados da histologia e da avaliação pelo computador (Coeficiente de Pearson).

placa de atheroma. As vantagens do estudo com a ultrassonografia dúplex convencional (transcutânea) são o baixo custo do exame e a sua natureza não invasiva, podendo ser repetida em estudos de acompanhamento de uma coorte populacional²⁴, tanto para avaliar a intervenção medicamentosa como o efeito de mudanças nos hábitos de vida. Na medida em que o exame pode ser realizado antes de um procedimento cirúrgico, tem o potencial de auxiliar nas decisões clínicas. O conhecimento do conteúdo lipídico da placa de atheroma, assim como da localização do núcleo de lipídeo e da espessura da capa fibrosa, pode auxiliar nas decisões sobre a melhor conduta nos pacientes assintomáticos com estenoses maiores do que 70-80% do diâmetro da luz arterial²⁵, o que constitui motivo de debate quanto à indicação cirúrgica nos dias de hoje. Este conhecimento também pode auxiliar na decisão de qual técnica utilizar para pacientes com estenoses críticas (cirurgia aberta ou angioplastia), uma vez que foi demonstrado que lesões com maior grau de estenose e placas de atheroma com maior conteúdo lipídico apresentam maior potencial de embolização cerebral durante o procedimento de angioplastia, mesmo com o uso de dispositivos de proteção cerebral do tipo filtros, os quais exigem que a lesão seja cruzada antes de serem liberados. Nestes casos, seria recomendável utilizar a cirurgia de endarterectomia ou dispositivos de proteção cerebral com bloqueio proximal ou reversão de fluxo pela carótida interna²⁶. Outro uso potencial para os estudos da histologia da placa *in vivo* é a criação

de tabelas de risco cardiovascular, à semelhança da utilização da espessura do complexo médio-intimal, especificamente voltado para o risco de acidente vascular cerebral²⁵.

Um dos problemas encontrados neste estudo foi o fato de que a classificação proposta por Lal e colaboradores²⁰ não avalia todas as estruturas histológicas, havendo ‘intervalos’ na escala de cinza que não foram atribuídos a nenhuma estrutura e chamados de *default* pelo programa. Encontrou-se, na maioria das placas, um percentual de até 50% de material não classificado. À histologia, observou-se grande quantidade de material amorfo (proteoglicanos e fibrina), o que poderia justificar o presente achado; note-se que é necessário classificar esse material amorfo e considerá-lo em estudos futuros.

Outro problema observado é que a histologia é avaliada em cortes transversais da placa e com espessura micrométrica; desta forma, não se permite uma avaliação global dos componentes da placa e sim um ‘retrato’ pontual da mesma. Tentou-se amenizar este problema escolhendo-se na imagem ultrassonográfica longitudinal o ponto que melhor corresponderia ao corte histológico. Se a placa for analisada como um todo na imagem longitudinal, ou mesmo na imagem transversal realizada em outro ponto da placa, os resultados não apresentam uma correlação tão positiva. Questiona-se, assim, se a histologia, na forma atual, seria mesmo o ‘padrão ouro’ ou se o ideal seria estudar o volume histológico

tridimensional, à semelhança de uma reconstrução tridimensional de exames de imagem (tomografia).

Vale aqui discutir qual metodologia será mais utilizada no futuro. Há a possibilidade de se utilizarem valores matemáticos obtidos dos dados de ecogenicidade de cada pixel da placa, como a mediana da escala de cinza (GSM), que é o valor mais utilizado atualmente. Outros parâmetros matemáticos – como a heterogeneidade da amostra, a distribuição dos píxeis ao longo de uma reta, o desvio padrão da distribuição dos valores em um histograma, etc. – poderiam oferecer outras informações objetivas a serem correlacionadas com a clínica e o prognóstico dos pacientes com doença carotídea^{19,27,28,29}.

No presente estudo, também parece encontrar-se uma correspondência entre os valores de GSM e o teor de gordura (Tabela 2), de maneira que as placas com menores valores eram mais ricas em lipídeo (menos ecogênicas), sugerindo que a avaliação histológica está realmente correta e tem o potencial de trazer maiores informações do que simplesmente a mediana da escala de cinza. Maiores estudos devem ser realizados para averiguar o valor clínico da histologia virtual por ultrassonografia *versus* o valor simples do GSM.

A colorização dos componentes da placa de ateroma, demonstrados na imagem modo B em escala de cinza, tem o potencial de oferecer ao médico assistente (clínico ou cirurgião) uma imagem bem mais ilustrativa da doença intraplaca do que os exames atualmente apresentados, facilitando a identificação do núcleo lipídico ou necrótico, da espessura da capa fibrosa e das áreas de hemorragia. Também a evolução dos programas computacionais traz a possibilidade dos estudos tridimensionais da placa e do seu volume, e tem o potencial tanto de trazer a avaliação global da placa como localizar áreas de maior interesse.

Vale a pena salientar a dificuldade metodológica na perfeita correlação entre os achados pelo ultrassom e pela histologia da placa, uma vez que o ultrassom é realizado *in vivo* e as imagens analisadas, em todos os estudos clássicos, são apresentadas em corte longitudinal, por meio do qual se pode não necessariamente avaliar a pior parte da placa. Adicionalmente, a placa de ateroma é retirada por cirurgia, em que muitas vezes se secciona e se fragmenta a placa, além de se eliminarem os conteúdos intraluminais (sangue) que estão pressurizados no paciente, mas deixam de exercer pressão sobre a parede no estudo em bancada. Também, grande parte do conteúdo lipídico na forma ‘mole’ é eliminada durante a manipulação cirúrgica.

Para a análise histológica *ex vivo*, a placa deve ser processada com a fixação em formol, descalcificada, fixada em parafina, cortada em espessura muito fina, sendo, na maioria dos estudos, em cortes transversais, ‘colorida’ utilizando-se solventes que retiram o conteúdo lipídico. Desta forma, diversos erros são introduzidos tanto na retirada e na preparação da placa como no sentido do corte em que as imagens são analisadas. O trabalho de Lovett e colaboradores¹³ sugere a padronização para o estudo anatomopatológico das placas de ateroma. No presente trabalho, tentou-se minimizar estes erros retirando-se a placa com o mínimo de ruptura da mesma e utilizando a imagem da lâmina de patologia como padrão, buscando na imagem ultrassonográfica a área em que haveria a mesma relação entre a luz/parede arterial e estudando um ‘corte’ desta região, em vez de toda a extensão da placa. Desta forma, conseguiu-se melhorar a correlação entre o conteúdo de lipídeos e de tecido fibromuscular entre as análises de histologia e ultrassonográfica. É interessante perceber que tanto o conteúdo de cálcio como de sangue na placa de ateroma são muito difíceis de serem avaliados, porque, no preparo da lâmina, estes são eliminados e devem ser interpretados pelo ‘vazio’ que deixam na imagem. Também na imagem de ultrassom, o cálcio gera sombra acústica, que impede a correta avaliação dos conteúdos da placa na área com ausência de ecos³⁰.

A possibilidade de utilização de inteligência artificial para o estudo da placa de ateroma pode facilitar a rotina do médico assistente. O computador pode realizar análises totalmente automatizadas, com a identificação da artéria, da placa de ateroma e a sua análise, assim como pode o médico selecionar a área de interesse e o computador realizar a análise (análise semiautomática). Esta metodologia acelera o tempo do exame e sua interpretação, podendo tornar prática a análise histológica em exames de rotina em que já é avaliado o grau de estenose da artéria. Atualmente, a análise de histologia virtual é realizada por meio do pós-processamento de imagens armazenadas, mas o *software* poderia ser incorporado aos equipamentos de ultrassom já disponíveis no mercado. Outra área de importância para a disseminação do método é a padronização da metodologia do exame em si e o seu ensino por meio das sociedades envolvidas com a formação do médico ultrassonografista vascular.

Diversos outros métodos de estudo do conteúdo e da atividade da placa de ateroma vêm sendo desenvolvidos, como tomografia computadorizada, PET-CT, ressonância magnética nuclear e exames de cintilografia utilizando marcadores celulares³,

mas o ultrassom, pela sua facilidade de realização e disponibilidade, com certeza terá papel fundamental na triagem destes pacientes.

Por fim, o programa em teste utilizado neste estudo apresenta algumas falhas de funcionamento, travando durante os estudos; dessa forma, a classificação apresentada não oferece a possibilidade de avaliar todos os tecidos. Por isso, abre-se espaço para seu aperfeiçoamento, com uma interface de trabalho mais fácil de ser utilizada e com maior discriminação dos componentes da placa. No meio médico, diversos autores estão trabalhando no aperfeiçoamento desta tecnologia visando à análise de placas de ateroma, trombos venosos, edema, parênquima renal e trombos no saco aneurismático, para controle após a correção endoluminal de aneurismas de aorta³¹⁻³³.

■ CONCLUSÕES

Houve correlação entre a HVUS transcutânea *in vivo* da placa carotídea e a histologia pós-operatória na definição de regiões de lipídeos e tecidos musculares/tecido fibroso; não houve correlação na classificação de sangue ou cálcio. Uma escala de cores mais detalhada do que a utilizada no presente trabalho e o estabelecimento de uma padronização dos cortes ultrassonográficos e histológicos são recomendáveis para estudos adicionais e para o uso prático da HVUS tanto para a estiva de risco de AVC durante procedimentos endovasculares como para o seguimento clínico.

■ REFERÊNCIAS

1. Kwee RM, Van Oostenbrugge RJ, Hofstra L, et al. Identifying vulnerable carotid plaques by noninvasive imaging. *Neurology*. 2008;70:2401-9. PMID:18541873. <http://dx.doi.org/10.1212/01.wnl.0000314697.76580.cb>
2. U-King-Im JM, Young V, Gillard JH. Carotid-artery imaging in the diagnosis and management of patients at risk of stroke. *Lancet Neurol*. 2009;8:569-80. [http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422\(09\)70092-4](http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422(09)70092-4)
3. Hermus L, Van Dam GM, Zeebregts CJ. Advanced carotid plaque imaging. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2010;39:125-33. PMID:20031452. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejvs.2009.11.020>
4. Baroncini LAV, Pazin A F^o, Junior LOM, et al. Ultrasonic tissue characterization of vulnerable carotid plaque: correlation between video densitometric method and histological examination. *Cardiovasc Ultrasound*. 2006;4:32. PMID:16914059 PMID:PMC1562449. <http://dx.doi.org/10.1186/1476-7120-4-32>
5. Swinndregt ADM, Elbers HRJ, Moll FL, Letter J, Ackerstaff RGA. Ultrasonographic characterization of carotid plaques. *Ultrasound Med Biol*. 1998;24(4):489-93. [http://dx.doi.org/10.1016/S0301-5629\(98\)00005-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0301-5629(98)00005-2)
6. Gao T, Zhang Z, Yu W, Zhang Z, Wang Y. Atherosclerotic carotid vulnerable plaques and subsequent stroke: a high-resolution MRI study. *Cerebrovasc Dis*. 2009;27:345-52. PMID:19218800 PMID:PMC2814027. <http://dx.doi.org/10.1159/000202011>
7. Malgor RD, Wood EA, Lavarone OA, Labropoulos N. Stratifying risk: asymptomatic carotid disease. *J Vasc Bras*. 2012;11(1):43-52.
8. Executive Committee for the Asymptomatic Carotid Atherosclerosis Study. Endarterectomy for Asymptomatic Carotid Artery Stenosis. *JAMA*. 1995;273:1421-8. PMID:7723155. <http://dx.doi.org/10.1001/jama.1995.03520420037035>
9. Barnett HJM, Taylor DW, Eliasziw M, et al. Benefit of carotid endarterectomy in patients with symptomatic moderate or severe stenosis. *N Engl J Med*. 1998;339:415-25. PMID:9811916. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM199811123392002>
10. European Carotid Surgery Trialists' Collaborative Group. Randomised trial of endarterectomy of recently symptomatic carotid stenosis: final results of the MRC European Carotid Surgery Trial (ECST). *Lancet*. 1998;351:1379-87. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(97\)09292-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(97)09292-1)
11. MRC Asymptomatic Carotid Surgery Trial (ACST) Collaborative Group. Prevention of disabling and fatal strokes by successful carotid endarterectomy in patients without recent neurological symptoms: randomised controlled trial. *Lancet*. 2004;363:1491-502. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)16146-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(04)16146-1)
12. Mantese VA, Timaran CH, Chiu D, Begg RJ, Brott TG, for the CREST Investigators. The carotid revascularization endarterectomy versus stenting trial (CREST). *Stroke*. 2010;41:S31-4. PMID:20876500 PMID:PMC3058352. <http://dx.doi.org/10.1161/STROKEAHA.110.595330>
13. JK Lovett, JNE Redgrave, PM Rothwell. A critical appraisal of the performance, reporting, and interpretation of studies comparing carotid plaque imaging with histology. *Stroke*. 2005; 36:1085-91. PMID:15774817. <http://dx.doi.org/10.1161/01.STR.0000160749.61763.95>
14. Wintermark M, Jawadi SS, Rapp JH, et al. High-resolution CT imaging of carotid artery atherosclerotic plaques. *Am J Neuroradiol*. 2008; 29:875-82. PMID:18272562. <http://dx.doi.org/10.3174/ajnr.A0950>
15. Farooq MU, Khasnis A, Majid A, Kassab MY. The role of optical coherence tomography in vascular medicine. *Vasc Med*. 2009; 14:63-71. PMID:19144781. <http://dx.doi.org/10.1177/1358863X08095153>
16. Sakalihan N, Michel JB. Functional imaging of atherosclerosis to advance vascular biology. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2009; 37:728-34. PMID:19232504. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejvs.2008.12.024>
17. Gao P, Chen ZQ, Bao YH, Jiao LQ, Ling F. Correlation between carotid intraplaque hemorrhage and clinical symptoms: systematic review of observational studies. *Stroke*. 2007; 38:2382-90. PMID:17600232. <http://dx.doi.org/10.1161/STROKEAHA.107.482760>
18. El-Barghouty N, Geroulakos G, Nicolaides A, Androulakis A, Bahai Nicolaides V. Computer-Assisted Carotid Plaque Characterisation. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 1995;9:389-95. [http://dx.doi.org/10.1016/S1078-5884\(05\)80005-X](http://dx.doi.org/10.1016/S1078-5884(05)80005-X)
19. Grønholdt MLM, Nordestgaard BG, Schroeder TV, Vorstrup S, Sillensen H. Ultrasonic Echolucent Carotid Plaques Predict Future Strokes. *Circulation*. 2001;104:68-3. PMID:11435340. <http://dx.doi.org/10.1161/hc2601.091704>
20. Lal BK, Hobson RW, Pappas PJ, et al. Pixel distribution analysis of B-mode ultrasound scan images predicts histologic features of atherosclerotic carotid plaques. *J Vasc Surg*. 2002;35:1210-7. PMID:12042733. <http://dx.doi.org/10.1067/mva.2002.122888>
21. Menezes FH, Luccas GC, Matsui I, Santos ACOQ, Silveira SAF. Avaliação através da ultra-sonografia duplex de reestenose da carótida interna dos pacientes submetidos à endarterectomia aberta de bifurcação carotídea, com eversão parcial da carótida interna. *J Vasc Br*. 2005;4(1):47-4.

22. Tan TW, Weyman AK, Barkhordarian S, Patterson RB. Single center experience with modified eversion carotid endarterectomy. *Ann Vasc Surg.* 2011;25:87-93. PMID:21172583. <http://dx.doi.org/10.1016/j.avsg.2010.11.004>
23. García-García HM, Gogas BD, Serruys PW, Bruining N. IVUS-based imaging modalities for tissue characterization: similarities and differences. *Int J Cardiovasc Imaging.* 2011;27(2):215-24. PMID:21327914 PMCid:PMC3078312. <http://dx.doi.org/10.1007/s10554-010-9789-7>
24. Mathiesen EB, Bønaa KH, Joakimsen O. Echolucent Plaques Are Associated With High Risk of Ischemic Cerebrovascular Events in Carotid Stenosis: The Tromsø Study. *Circulation.* 2001;103:2171-5. PMID:11331258. <http://dx.doi.org/10.1161/01.CIR.103.17.2171>
25. Pedro LM, Fernandes JF, Pedro MM, et al. Ultrasonographic Risk Score of Carotid Plaques. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2002;24:492-8. PMID:12443743. <http://dx.doi.org/10.1053/ejvs.2002.1766>
26. Biasi GM, Froio A, Diethrich EB, et al. Carotid plaque echolucency increases the risk of stroke in carotid stenting. The Imaging In Carotid Angioplasty And Risk Of Stroke (ICAROS) study. *Circulation.* 2004;110:756-62. PMID:15277320. <http://dx.doi.org/10.1161/01.CIR.0000138103.91187.E3>
27. Kakkos SK, Stevens JM, Nicolaidis AM, et al. Texture analysis of ultrasonic images of symptomatic carotid plaques can identify those plaques associated with ipsilateral embolic brain infarction. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2007;33:422-9. PMID:17161964. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejvs.2006.10.018>
28. Russell DA, Wijeyaratne SM, Gough MJ. Changes in carotid plaque echomorphology with time since a neurologic event. *J Vasc Surg.* 2007;45:367-72. PMID:17264018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jvs.2006.09.048>
29. Mathiesen EB, Johnsen SH, Wilsgaard T, Bønaa KH, Løchen ML, Njølstad I. Carotid plaque area and intima-media thickness in prediction of first-ever ischemic stroke: A 10-year follow-up of 6584 men and women: The Tromsø Study. *Stroke.* 2011;42:972-8. PMID:21311059. <http://dx.doi.org/10.1161/STROKEAHA.110.589754>
30. Gray-Weale AC, Graham JC, Burnett JR, et al. Carotid artery atheroma: comparison of preoperative B-mode ultrasound appearance with carotid endarterectomy specimen pathology. *J Cardiovasc Surg.* 1988;29:676-81.
31. Cassou-Birckholz MF, Engelhorn CA, Salles-Cunha SX, et al. Assessment of deep venous thrombosis by grayscale median analysis of ultrasound images. *Ultrasound Q.* 2011;27(1):55-61. PMID:21343802. <http://dx.doi.org/10.1097/RUQ.0b013e31820e157d>
32. Valiente Engelhorn AL, Engelhorn CA, Salles-Cunha SX, Ehlert R, Akiyoshi FK, Assad KW. Ultrasound tissue characterization of the normal kidney. *Ultrasound Q.* 2012;28(4):275-80. PMID:23149511. <http://dx.doi.org/10.1097/RUQ.0b013e318276f12b>
33. Salles Cunha SX. Inovação. Nota técnica: avaliação de aneurismas da aorta tratados com endopróteses. *J Vasc Bras.* 2012;11(2):150-3. <http://dx.doi.org/10.1590/S1677-54492012000200013>

Correspondência

Fábio Hüsemann Menezes
Rua Deusdeti Martins Gomes, 122
CEP 13084-723 - Campinas (SP), Brasil
Fone: (19) 35219450 / Fax: (19) 32880202
E-mail: fmenezes@mpc.com.br

Informações sobre os autores

FHM é professor assistente doutor na disciplina de Moléstias Vasculares do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). TCS é graduando da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). SAFS é doutora pela Universidade Estadual de Campinas, ultrassonografista vascular e clínica vascular. SXSC é doutor em Radiologia, técnico e consultor independente em Ultrassonografia Vascular. KM é professor assistente doutor do Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). ASCM é patologista responsável pelo Laboratório de Patologia Menezes.

Contribuições dos autores*

Concepção e desenho do estudo: FHM, TCS, SXSC, SAFS, KM
Análise e interpretação dos dados: FHM, TCS, SXSC
Coleta de dados: FHM, TCS, KM, ASCM
Redação do artigo: TCS, FHM, SXSC
Revisão crítica do texto: FHM, TCS, SXSC, SAFS, KM, ASCM
Aprovação final do artigo*: FHM, TCS, SXSC, SAFS, KM, ASCM
Análise estatística: Não houve análise estatística neste estudo.
Responsabilidade geral do estudo: FHM, TCS
Informações sobre financiamento: Houve financiamento do autor
Thiago do Carmo Silveira – bolsa de iniciação científica pelo programa PIBIC/CNPq para alunos de iniciação científica da UNICAMP

*O graduando TCS tem o mesmo peso de autoria do trabalho de que o autor FHM.

**Todos os autores devem ter lido e aprovado a versão final submetida ao J Vasc Bras.