

Processamento de Imagens para Análise da Composição de Placa de Aterosclerose: Estudo Preliminar em Material de Autópsia

R. A. Andrade*, D. S. Farias-Itao**, A. Nishizawa**, F. M. Campos**, C. A. Pasqualucci**, C. K. Suemoto**, A. B. Campo*

*Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo, São Paulo, Brasil

**Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil

e-mail: renato.engineering.tech@gmail.com

Abstract – *O projeto apresentado consiste na aplicação de técnicas de processamento para análise de imagens histológicas de secções arteriais resultantes de amostras coletadas após a autópsia. Trata-se de uma cooperação técnico-científica entre o Instituto Federal de São Paulo (IFSP) e o Laboratório de Patologia Cardiovascular (LIM-22) da FMUSP, para auxiliar os estudos conduzidos pelo laboratório envolvendo a análise do índice de estenose, além da avaliação da composição de placa de aterosclerose. O foco da pesquisa é a possibilidade de substituição da análise manual do material por um algoritmo de processamento de imagens, o que poderá trazer benefícios como maior agilidade na análise de cada segmento arterial, obtenção de dados detalhados dos componentes da placa e quantificação da porcentagem de cada componente. A maioria dos estudos encontrados sobre o assunto aborda a aplicação de técnicas de processamento em imagens de ultrassom intravascular (USIV). Portanto, o objetivo do trabalho é a aplicação de técnicas semelhantes em material de autópsia, porém, adaptadas às características presentes nas imagens histológicas obtidas via estereomicroscópio.*

Palavras-chave: *Aterosclerose, processamento de imagens, estenose arterial.*

Introdução

As doenças cardiovasculares são a principal causa de morte em todo o mundo. Estima-se que, em 2015, 17,7 milhões de pessoas tenham falecido por doenças cardiovasculares, representando em torno de 31% do total de óbitos [1]. Em 2013, as doenças isquêmicas do coração e o acidente vascular cerebral foram responsáveis por cerca de 14,8% e 11,7% do total de mortes em todo o mundo, respectivamente [2].

Somente no Brasil, em 2015, 27,7% do total de óbitos aconteceram em decorrência das doenças cardiovasculares, sendo que as doenças isquêmicas do coração e as doenças cerebrovasculares foram responsáveis por aproximadamente 8,8% e 8,0% do total de mortes, respectivamente [3].

A aterosclerose é uma doença arterial crônica, considerada a maior causa de morte vascular [4] [5] e a principal causa de doenças cardiovasculares [6]. Aterosclerose significa o espessamento da camada interna das artérias, juntamente com o acúmulo de gordura. O material adiposo fica situado no núcleo central da placa de aterosclerose e é cercado por uma capa fibrosa [7] [8] [9].

Pesquisas conduzidas atualmente no Laboratório de Patologia Cardiovascular e no Laboratório de Fisiopatologia no Envelhecimento da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP) investigam a associação entre o índice de adiposidade medido através da gordura visceral, medidas antropométricas e o grau de aterosclerose nas artérias aorta, coronárias, carótidas e cerebrais de indivíduos autopsiados de diferentes faixas etárias. O grau de aterosclerose é avaliado através do índice de estenose [10]. O material amostrado para estudo é resultante de fotografia digital, via estereomicroscópio (Nikon® SMZ 1000, Tóquio, Japão), das lâminas de secções arteriais. As imagens são analisadas pelo pesquisador, que identifica os contornos das camadas de cada artéria, traça suas fronteiras manualmente com auxílio do software Image J® [11], calcula o índice de estenose [10] e caracteriza os componentes da placa. O Laboratório de Patologia Cardiovascular conta com um vasto banco de imagens de secções histológicas a serem processadas, sendo que a análise manual das mesmas requer tempo e contribui para lesões de esforços repetitivos [12] [13] [14]. A Figura 1 exibe, como exemplo, uma das imagens coletadas que foi analisada manualmente para delimitação dos contornos e cálculo do índice de estenose.

O objetivo deste trabalho é a implementação de um algoritmo para análise automática das imagens arteriais, em substituição à análise manual.

Materiais e métodos

Foi realizada uma revisão bibliográfica especializada, no período entre janeiro e junho de 2017, com consulta a artigos científicos do banco de dados da plataforma *IEEE Xplore Digital Library* (IEEE – Instituto de Engenheiros Eletricistas e

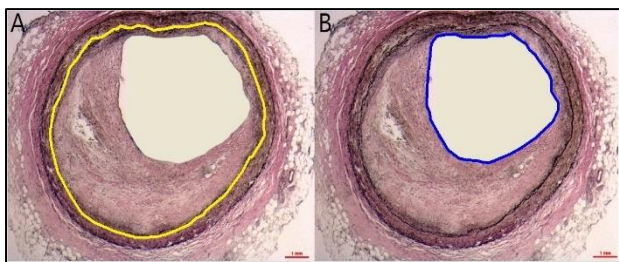


Figura 1. Delimitação manual da lâmina limitante elástica interna (LLEI) (A) e do lúmen (B). Fonte: Laboratório de Patologia Cardiovascular da FMUSP.

Eletrônicos), utilizando as seguintes palavras-chave: *atherosclerosis* (aterosclerose), *virtual histology* (histologia virtual), *stenosis index* (índice de estenose), *plaque characterization* (caracterização de placa), *arterial contour* (contorno arterial), *adventitia* (adventícia), *lumen* (lúmen), *carotid artery* (artéria carótida) e *IMT – intima-media thickness* (espessura da camada íntima-média). Os critérios de inclusão para os artigos encontrados foram o emprego de técnicas de processamento de imagens para a detecção de contornos e para a classificação de placa aterosclerótica em secções arteriais transversais, ainda que em estudos realizados em imagens de ultrassom. Foram descartados documentos sobre análise longitudinal das artérias, além de quaisquer estudos que não abordassem a classificação ou contorno das regiões arteriais. Os trabalhos selecionados foram consultados como base para o desenvolvimento de um algoritmo dedicado à proposta em questão, e não para comparação entre os métodos de origens distintas (USIV e microscopia).

Por último, após analisadas as principais técnicas aplicadas nesses estudos, foram realizados os primeiros testes de detecção dos contornos para o cálculo do índice de estenose das imagens adquiridas via estereomicroscópio, com resolução inicial de 640x480 pixels, formato JPEG e sob coloração *Verhoeff*. O ambiente de programação selecionado foi o NI LabVIEW®, que conta com uma biblioteca específica para processamento de imagens [15]. O método futuro para análise dos resultados será a comparação do traçado pelo algoritmo com o manual executado por profissional do laboratório, indicando as diferenças mínima, média, máxima e desvio padrão de distância entre linhas, perímetro e área obtidos.

Resultados

Através da revisão bibliográfica recente, conforme os critérios de inclusão descritos anteriormente, foram selecionados 11 artigos que relatam sobre o emprego de algoritmos de processamento de imagem

em histologia virtual arterial. Atualmente esse segmento da histologia está comumente ligada à aquisição de imagens através de ultrassom intravascular (USIV).

Em estudo prévio [16], foi desenvolvido um método para rastreamento e classificação das artérias carótida e jugular interna. Um ponto interessante desse estudo é o algoritmo para interpolação e varredura em elipse, possibilitando a análise de contornos arteriais sem a necessidade de planificação.

Porém, observa-se que, na maioria dos estudos selecionados [17] [18] [19] [20] [22], a imagem arterial foi planificada (representação polar para retangular) antes da limiarização. Esse processo normalmente é realizado pelo próprio programa do equipamento de ultrassom, que apresenta a imagem original e a já desenvolvida em regiões diferentes na tela. Além disso, como a sonda ocupa uma pequena região do lúmen em que não há medição, esse trecho precisa ser removido da análise, por não apresentar os dados de interesse. Os dados da sonda só começam a apresentar relevância no momento em que se distanciam da mesma, destacando a posição da sonda com um vazio circular.

Em outros quatro trabalhos [17] [18] [19] [20], os contornos são encontrados através de limiarização ou aproximação estatística dos dados de varredura com segmentação e suavização dos contornos obtidos. Esse método é eficiente em situações em que a aresta de interesse se destaca em relação aos demais dados da vizinhança, desviando-se da média dos pixels na linha de varredura ou de uma região específica da imagem. Além disso, a aproximação estatística utilizada em [17] e [20] sucede uma etapa de evolução de contorno inicial (*snake*), cujo formato adaptativo e progressivo tende a se acomodar após sucessivas iterações e leituras dos pixels vizinhos de cada ponto.

Por outro lado, nos demais estudos para contorno arterial [21] [22] [23] foram empregados filtros de mediana e passa-baixa linear ou varredura de energia/gradiente dos pixels detectados. Tais técnicas proporcionaram um mapa de transições na imagem, porém, necessitaram da combinação com redes neurais e algoritmos para otimização dos dados coletados, a fim de estabelecer o traçado que melhor representasse o contorno do lúmen e da LLEI.

Nota-se também que, na aquisição de imagens por USIV, as regiões de calcificação representam um desafio para a delimitação dos contornos. Isso acontece porque a região de calcificação inibe que as ondas emitidas pela sonda sejam propagadas mais adiante, resultando em uma zona de sombra que oculta o contorno verdadeiro das camadas da artéria. Esse problema pode ser observado nos estudos [17] [18] [19] [21], que procuraram aplicar rotinas de

interpolação para obter uma estimativa consistente dos contornos reais das artérias.

Por último, foram selecionados três estudos [24] [25] [26] sobre algoritmos para caracterização das regiões de placa de aterosclerose. Nesses trabalhos, a região de placa foi definida por uma máscara (exatamente a região entre o lúmen e a LLEI), e então foi aplicada uma combinação de diferentes algoritmos para classificação das sub-regiões em: tecido lipídico, necrótico, fibroso e calcificado. Em [24], o resultado foi a classificação homogênea das sub-regiões através de um algoritmo baseado em regras de Lógica Fuzzy, enquanto que em [25] lançou-se mão de um algoritmo baseado em pacotes de *wavelets* e também da combinação de duas naturezas de imagem (ultrassom e microscopia colorida). No terceiro estudo [26], antecessor aos outros dois, empregou-se a correlação de quatro descritores de textura para a classificação das sub-regiões como caráter mole ou rígido (calcificação), apresentando grande exatidão (superior a 85%).

A etapa experimental deste estudo encontra-se em fase inicial, tendo sido realizados apenas alguns testes na detecção dos contornos arteriais para cálculo do índice de estenose (LLEI e região do lúmen). O diagrama da rotina utilizada para o algoritmo de teste está ilustrado na Figura 2. Para esse método, foram separados os planos de cor que melhor destacassem os contornos da artéria e aplicados os métodos de limiarização menos sensíveis à não uniformidade do fundo da imagem. Operações morfológicas foram executadas para filtrar as partículas não desejadas, e as regiões finais foram contornadas por varredura radial, em similaridade aos trabalhos consultados.

Por meio da rotina é possível detectar os contornos em uma série de 20 imagens arteriais, com diferentes tonalidades e intensidades de luz. A Figura 3 mostra como exemplo duas imagens em coloração *Verhoeff*, cujos contornos foram delimitados pelo algoritmo. Porém, dificuldades foram encontradas para as demais imagens do banco de dados do laboratório e, dessa forma, é necessário o desenvolvimento de um método mais robusto para o problema.

Discussão e Conclusões

As imagens de USIV possuem como diferenciais a localização automática da sonda, a planificação da imagem (proporcionando uma varredura linear) e a preservação do formato natural do vaso (diferente do que ocorre nas lâminas para análise histológica).

Através da consulta dos diferentes métodos selecionados durante a fase de revisão, conclui-se que para a tarefa dos contornos utilizou-se uma combinação de varredura com evolução de contornos,

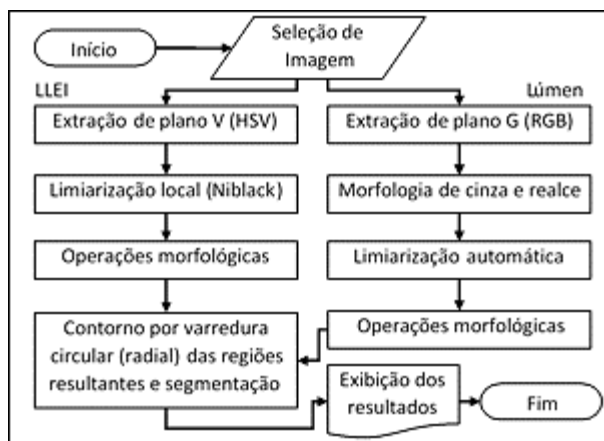


Figura 2. Rotina utilizada para o algoritmo de teste.

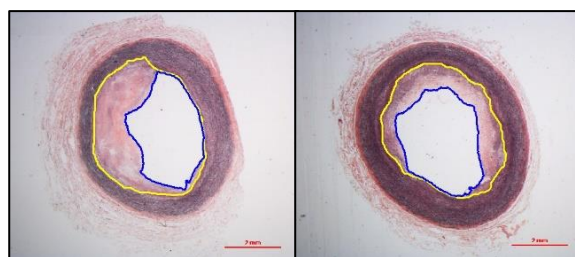


Figura 3. Imagens processadas automaticamente (contorno amarelo – LLEI e azul – lúmen).

limiarização estatística, interpolação e inteligência artificial. Nos estudos para caracterização de placa, fez-se necessária a aplicação de descritores de textura ou *wavelets*, também com inteligência artificial.

Os primeiros resultados com limiarização estatística, varredura radial e operações morfológicas apresentaram-se como promissores para o início do trabalho sobre os contornos. O método deverá, então, ser adaptado para atender às necessidades do laboratório, visto que ainda não atingiu a qualidade necessária para processar todas as imagens. Essa pesquisa será melhor relatada em posterior dissertação de mestrado a ser submetida ao Instituto Federal de São Paulo, seguindo a parceria com o Laboratório de Patologia Cardiovascular da FMUSP.

Agradecimentos

Agradecimentos a todos os demais envolvidos durante a pesquisa, em especial ao Prof. Dr. Tarcísio F. Leão, pelo apoio prestado para a confecção deste documento e orientações para o avanço da proposta.

Comitê de Ética e Financiamento

Os estudos conduzidos pelo laboratório possuem dois protocolos aprovado pelo Comitê de Ética da FMUSP (412/11 e 439/12), São Paulo, Brasil. O

financiamento das pesquisas ocorre através do apoio do departamento LIM-22 (Laboratório de Investigação Médica).

Referências

- [1] Organização Mundial da Saúde. Cardiovascular diseases (CVDs). WHO | World Health Organization, 2017. Disponível em: <http://www.who.int/media/centre/factsheets/fs317/en/>. Acesso em: 19/05/2017.
- [2] Naghavi, M. et al. Global, regional, and national age–sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *The Lancet*, Jan. 2015. p. 117-171.
- [3] Brasil. Ministério da Saúde. DATASUS, 2017. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sim/cnv/obt10uf.def>. Acesso em: 17/05/2017.
- [4] Herrington, W. et al. Epidemiology of Atherosclerosis and the Potential to Reduce the Global Burden of Atherothrombotic Disease. *Circ Res*, 6 Nov. 2015. p. 535-546.
- [5] Bentzon, J. F. et al. Mechanisms of Plaque Formation and Rupture. *Circ Res*, 7 Abr. 2014. p. 1852-1866.
- [6] Niccoli, T.; Partridge, L. Ageing as a Risk Factor for Disease. *Current Biology*, 11 Set. 2012. p. R741-R752.
- [7] Rafieian-Kopaei, M. et al. Atherosclerosis: Process, Indicators, Risk Factors and New Hopes. *Int J Prev Med*, 5 Ago. 2014. p. 927-946.
- [8] Rahimi, Z. ACE insertion/deletion (I/D) polymorphism and diabetic nephropathy. *J Nephrothol*, 1 Out. 2012. p. 143-151.
- [9] Ross, R. Atherosclerosis - An Inflammatory Disease. *New England Journal of Medicine*, 14 Jan. 1999. p. 115-126.
- [10] Suemoto, C. K. et al. Atherosclerosis and Dementia: A Cross Sectional Study with Pathological Analysis of the Carotid Arteries. *Stroke*, São Paulo/SP, Set. 2011. p. 3614-3615.
- [11] RSB. Introduction. RSB Home Page, 2017. Disponível em: <https://imagej.nih.gov/ij/docs/intro.html>. Acesso em: 12/09/2017.
- [12] Nishizawa, A. et al. Association between adiposity and systemic atherosclerosis: a protocol of a cross-sectional autopsy study. *Open Heart*, São Paulo/SP, 30 Jun. 2016. p. 1-8.
- [13] Nishizawa, A. Associação entre adiposidade e aterosclerose sistêmica [tese de Doutorado]. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. São Paulo/SP, p. 175. 2016.
- [14] Farias, D. S. Associação entre inflamação do tecido adiposo epicárdico e doença arterial coronária: um estudo clinicopatológico [dissertação de Mestrado]. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. São Paulo/SP, p. 146. 2016.
- [15] Relf, C. G. *Image Acquisition and Processing with LabVIEW*. Boca Raton: CRC Press LLC, 2004.
- [16] Wang, D. C. et al. Fully Automated Common Carotid Artery and Internal Jugular Vein Identification and Tracking Using B-Mode Ultrasound. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, Minneapolis, 6 Jun. 2009. p. 1691-1699.
- [17] Unal, G. et al. Shape-Driven Segmentation of the Arterial Wall in Intravascular Ultrasound Images. *IEEE Transactions on Information Technology in Biomedicine*, 3 Maio 2008. p. 335-347.
- [18] Gil, D. et al. Statistical Strategy for Anisotropic Adventitia Modelling in IVUS. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 6 Jun. 2006. p. 768-778.
- [19] Hernández, A. et al. Anisotropic Processing of Image Structures for Adventitia Detection in Intravascular Ultrasound Images. *IEEE - Computers in Cardiology*, 2004. p. 229-232.
- [20] Brusseau, E. et al. Fully Automatic Luminal Contour Segmentation in Intracoronary Ultrasound Imaging - A Statistical Approach. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 5 Maio 2004. p. 554-566.
- [21] Plissiti, M. E. et al. An Automated Method for Lumen and Media–Adventitia Border Detection in a Sequence of IVUS Frames. *IEEE Transactions on Information Technology in Biomedicine*, 2 Jun. 2004. p. 131-141.
- [22] Luo, Z.; Wang, Y.; Wang, W. Estimating Coronary Artery Lumen Area with Optimization-Based Contour Detection. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 4 Abr. 2003. p. 564-566.
- [23] Klingensmith, J. D.; Shekhar, R.; Vince, D. G. Evaluation of Three-Dimensional Segmentation Algorithms for the Identification of Luminal and Medial–Adventitial Borders in Intravascular Ultrasound Images. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 10 Out. 2000. p. 996-1011.
- [24] Giannoglou, V. G. et al. Genetic Fuzzy Rule-Based Classification Systems for Tissue Characterization of Intravascular Ultrasound Images. *WCCI 2012 IEEE World Congress on Computational Intelligence*, Brisbane, 10-15 Jun. 2012.
- [25] Katouzian, A. et al. Iterative Self-Organizing Atherosclerotic Tissue Labeling in Intravascular Ultrasound Images and Comparison with Virtual Histology. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 11 Nov. 2012. p. 3039-3049.
- [26] Xiangmin, Z.; McRay, C. R.; Sonka, M. Tissue Characterization in Intravascular Ultrasound Images. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, Iowa, 1998. p. 889-899.