UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

Guilherme Luna Martinez

**Precisão diagnóstica e reprodutibilidade de marcadores ultrassonográficos na
diferenciação de massas mamarias benignas e malignas**

Ribeirão Preto

2019

Guilherme Luna Martinez

Precisão diagnóstica e reprodutibilidade de marcadores ultrassonográficos na diferenciação de massas mamárias benignas e malignas.

Tese apresentada ao Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo para obtenção de título de Doutor em Ciências Médicas. Área de Concentração: Ginecologia e Obstetrícia.

Orientador: Dr. Wellington de Paula Martins

Ribeirão Preto

2019

FICHA CATALOGRÁFICA

Martinez, Guilherme Luna

Precisão diagnóstica e reprodutibilidade de marcadores ultrassonográficos na diferenciação de massas mamarias benignas e malignas. Ribeirão Preto, 2019.

p. 53; 30cm.

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Ginecologia e Obstetrícia.

Orientador: Martins, Wellington de Paula

1. ultrassonografia 3D,
2. Marcadores ultrassonográficos,
3. Câncer de mama
4. *Reprodutibilidade*,
5. Precisão Diagnóstica

FOLHA DE APROVAÇÃO

Guilherme Luna Martinez

Precisão diagnóstica e reprodutibilidade de marcadores ultrassonográficos na diferenciação de massas mamárias benignas e malignas.

Tese apresentada ao Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo para obtenção de título de Doutor em Ciências Médicas.
Área de Concentração: Ginecologia e Obstetrícia

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Aos meus filhos Pedro e Miguel, por serem a razão de cada um dos meus dias. Aos meus pais por serem minha aspiração. Obrigado por existirem na minha vida.

AGRADECIMENTOS

Minha profunda gratidão,

A Deus, por me iluminar continuamente nos caminhos de evolução e por não me deixar afastar dos meus objetivos.

Aos meus pais, por sempre aceitarem minhas decisões e por me aconselharem de forma tão correta.

Ao meu grande amigo e orientador, Wellington de Paula Martins. Por me aceitar e me ajudar durante todos esses anos. Uma grande inspiração de conhecimento, inteligência e empreendedorismo.

A minha amiga Isabela, coautora desse trabalho, que gentilmente aceitou fazer parte dessa jornada, ausentando-se de sua família para me acompanhar na jornada.

Aos funcionários do Hospital das Clínicas, em especial do departamento de Ginecologia e Obstetrícia que me ajudaram a consolidar essa tese.

Aos coautores desse trabalho, pela dedicação nas análises dos dados de nosso trabalho.

A toda a Equipe do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia do HC. Obrigado por todos esses anos de formação. Fazer parte deste serviço foi parte essencial da minha construção profissional.

RESUMO

MARTINEZ, Guilherme Luna. **Precisão diagnóstica e reprodutibilidade de marcadores ultrassonográficos na diferenciação de massas mamárias benignas e malignas.** Tese (doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. 2019.

Introdução: A ultrassonografia convencional (US-2D) pode ser utilizada como adjuvante em casos de achado clínico ou de mamografia anormal. A principal limitação da US é sua baixa especificidade que pode ser melhorada através da aplicação de novas tecnologias. A ultrassonografia Power Doppler tridimensional permite a quantificação do sinal Doppler dentro de tecidos através de três índices: índices de vascularização (VI), fluxo (FI) e vascularização-fluxo (VFI). Há dados sugestivos de que estes índices possam ser úteis na avaliação da malignidade de nódulos mamários. O índice de pulsatilidade volumétrico (vPI) derivado da Correlação de Imagem Espaço-Temporal (STIC) é outro ferramental para análise de fluxo tecidual que poderia ser utilizada com esta finalidade. Não há dados sobre a reprodutibilidade e ou validade dos índices PD-3D e STIC na diferenciação de massas benignas e malignas. **Objetivos:** Estimar a reprodutibilidade e a precisão diagnóstica de parâmetros de ultrassonografia PD-3D e STIC na distinção de nódulos mamários benignos e malignos. **Métodos:** Foram recrutadas pacientes não consecutivas provenientes de clínica privada ou do Hospital do Câncer em Ribeirão Preto. Foram consideradas elegíveis pacientes que tinham lesões acima de 01 cm de diâmetro, identificadas por US que estivessem sido agendadas para realizar biópsia cirúrgica/agulha grossa; que compareceram no dia da avaliação ultrassonográfica; e que aceitaram participar da pesquisa após assinar termo de consentimento livre e esclarecido. As pacientes foram submetidas à US-2D, ultrassonografia Doppler espectral, e aquisição de blocos 3D e STIC com Doppler de amplitude por dois observadores de forma independente, quando os dois observadores estavam disponíveis, ou por apenas um dos observadores. Os blocos STIC com Doppler de amplitude só foram obtidos nos casos onde a máquina conseguia registrar automaticamente a frequência cardíaca da paciente baseado na pulsatilidade do vaso. Nos casos onde apenas o observador 1 fez o exame de ultrassonografia, o observador 2 fez a análise dos blocos colhidos pelo observador 1 para avaliação de precisão diagnóstica; para análise de reprodutibilidade, apenas os dados de pacientes avaliados de forma independente pelos dois observadores foram utilizados. A biópsia foi realizada por radiologista com experiência em biópsias mamárias e a avaliação histológica foi feita por patologista com um intervalo de no máximo 30 dias após o exame de ultrassonografia. Foram analisados idade, peso, altura e índice de massa corpórea – IMC (kg/m^2) e os seguintes parâmetros

ultrassonográficos: volume da massa e diâmetro máximo por US-2D com e sem harmônica, velocidade máxima, índice de resistência (IR) e pulsatilidade (IP) por ultrassonografia Doppler espectral de vasos dentro dos nódulos; quantificação do sinal Doppler 3D pelos índices de vascularização (VI), fluxo (FI) e vascularização-fluxo (VFI) da massa, de uma amostra de tecido mamário de 5 mm circundando a massa; e de uma amostra esférica de 1cm³ da região considerada subjetivamente como sendo a mais vascularizada; e o índice de pulsatilidade volumétrico (vPI) baseado no VFI dessa amostra de 1cm³ obtido por STIC. A precisão diagnóstica foi avaliada pela área sob a curva ROC (AUROC) e a reprodutibilidade inter-observador foi estimada pelo coeficiente de correlação de concordância (CCC) e pelos limites de concordância. **Resultados:** O exame de ultrassonografia foi realizado em 54 mulheres pelos dois observadores e em mais 48 mulheres apenas pelo observador 1, dando um total de 102 mulheres incluídas neste estudo. A aquisição do bloco STIC foi possível em apenas 53 mulheres. Dos parâmetros avaliados, apenas a idade e parâmetros Doppler 3D avaliados pelo observador 2 foram significativamente diferentes entre massas malignas e benignas: idade (56,0 vs. 40,8 anos; $p < 0,0001$, AUROC = 0.78), VFI da massa (0,96 vs. 0,43; $p = 0,007$, AUROC=0,70), VFI da região de 5mm circundando a massa (0,91 vs. 0,55; $p = 0,008$, AUROC=0,71), VFI do região com volume de 1cm³ considerada como sendo a mais vascularizada da massa (0,91 vs. 0,55; $p = 0,008$, AUROC=0,72) e o vPI desta mesma região (0,85 vs. 1,44; $p = 0,04$, AUROC=0,67). Os resultados do CCCs sugerem uma reprodutibilidade inter-observador satisfatória para o diâmetro máximo (com e sem harmônica) e volume por ultrassom 2D e volume 3D (CCC=0,82-0,96). Os resultados dos CCCs para os parâmetros Doppler 2D e Doppler 3D foram mais baixos (CCC = 0,0-0,4). **Conclusões:** Na análise de precisão diagnóstica utilizando US-2D e Doppler espectral, apenas o BI-RADS para ambos os observadores e a velocidade máxima (PS) para o observador 2 foi útil na diferenciação das massas benignas e malignas. Nos parâmetros de ultrassonografia Doppler 3D, os índices Doppler 3D (VFI, VFI-Shell 5mm, VFI amostra 1cm³) foram úteis na diferenciação das massas para o observador 2. O vPI (STIC) baseado no VFI da amostra de 1cm³ considerada subjetivamente como sendo a mais vascularizada do tumor não se mostrou útil na distinção de tumores mamários benignos e malignos. Exceto pela avaliação das dimensões das massas, os outros parâmetros de ultrassonografia apresentaram baixa reprodutibilidade inter-observador. Antes de considerar o método para a prática clínica, é necessário identificar o treinamento mínimo ideal e avaliar estratégias para melhorar a reprodutibilidade.

Palavras-chave: Câncer de Mama; Índices Doppler 3D; Ultrassonografia; Reprodutibilidade.

ABSTRACT

MARTINEZ, Guilherme Luna. **Diagnostic accuracy and reproducibility of ultrasound markers in the differentiation of benign and malignant mammary masses**. Medical School of Ribeirão Preto, University of São Paulo. 2019.

Introduction: Ultrasonography (US) can be used as an adjunct in cases of clinical findings or abnormal mammography. The main limitation of US is its low specificity that can be improved through the application of technologies such as 3D (3D) ultrasonography. The Power Doppler 3D (PD-3D), through its indices, allows the analysis and quantification of blood flow within body structures and were used for differentiation of mammary nodules. However, there is insufficient evidence for the use of this method in clinical practice. Volumetric impedance indices derived from spatiotemporal image correlation (STIC) could alleviate the influence of the machine adjustments and attenuation in the PDU, having the potential to be useful in clinical practice. There are no data on the reproducibility and or validity of PD-3D and STIC indices in the differentiation of benign and malignant masses. **Objectives:** To estimate the diagnostic precision and reproducibility of the following methods in the evaluation of breast masses: mass volume and maximum diameter using US-2D with and without harmonics; maximum velocity, IR and IP spectral Doppler ultrasonography of vessels within the nodules; quantification of the 3D Doppler signal by the indexes VI, FI, VFI of the mass and the surrounding breast tissue (Shell) of 5mm; quantification of the 3D Doppler signal by the VI, FI and VFI indices of a spherical sample of 1cm³ of the region subjectively considered to be the most vascularized of the tumor; vPI based on the VFI of the 1cm³ sample subjectively considered to be the most vascularized tumor. **Methods:** Non-consecutive patients were recruited from a private clinic or from the Hospital do Câncer in Ribeirão Preto. Patients who had lesions above 1cm, identified by US who had been scheduled to undergo surgical biopsy / thick needle, were considered eligible; that appear on the day of the ultrasound evaluation; and who agreed to participate in the research after signing a free and informed consent form. Patients were submitted to US 2D, 3D Doppler indices (3D Blocks) and vPI (STIC blocks) with 1 or 2 blocks of each patient. In cases where only observer 1 underwent ultrasonography, observer 2 performed the analysis of its blocks for evaluation of diagnostic accuracy. However, for reproducibility analysis, only the data of patients evaluated independently by the two observers were used. The biopsy was performed by a radiologist with experience in mammary biopsies and the histological evaluation was done by a pathologist in a maximum of 30 days. We evaluated the data on the demographic characteristics (age, weight, height and body mass index - BMI (kg / m²)) of the sample and the

normality of data distribution, which were presented as mean, standard deviation, median and 25- 75. We then evaluated the diagnostic accuracy (95% confidence interval) of the methods across area under the ROC curve (AUROC) and reproducibility, determining the concordance correlation coefficient (CCC) and the limits of agreement with the respective Bland- Altman. **Results:** The ultrasound examination was performed in 102 patients by observer 1 and in 54 patients by observer 2. 3D analysis was performed in 102 patients by observer 1 and 102 by observer 2 (54 in which the study was performed and 48 patients in whom only observer 1 conducted the examination). Of the parameters evaluated, age and 3D Doppler parameters evaluated by observer 2 were significantly different between malignant and benign masses: age (56.0 vs. 40.8 years; $p < 0.0001$, AUROC = 0.78), mass VFI 0.96 vs. 0.43, $p = 0.007$, AUROC = 0.70), VFI of the 5mm region surrounding the mass (0.91 vs. 0.55, $p = 0.008$, AUROC = 0.71), VFI (0.91 vs. 0.55, $p = 0.008$, AUROC = 0.72) and vPI from the same region (0.85 vs. 1.44; $p = 0.04$, AUROC = 0.67). For the reproducibility, an analysis was made considering the 54 cases in which observer 1 and 2 performed and evaluated the examination. The results of the CCCs suggest satisfactory interobserver reproducibility for the maximum diameter (with and without harmonic) and volume by 2D ultrasound and 3D volume (set the CCC range here, as done below). The results of the CCCs for the 2D Doppler and 3D Doppler parameters were lower (CCC = 0.0-0.4). **Conclusions:** In the diagnostic accuracy analysis using US-2D and spectral Doppler, only the BI-RADS for both observers and the maximum velocity (PS) for the observer 2 was useful in the differentiation of the benign and malignant masses. In the 3D Doppler ultrasonography parameters, 3D Doppler indices (VFI, VFI-Shell 5mm, VFI sample 1cm³) were useful in the differentiation of the masses for the observer 2. The VFI based on the VFI of the 1cm³ sample subjectively considered to be the most vascularized tumor did not prove useful in distinguishing between benign and malignant mammary tumors. Except for the evaluation of mass dimensions, the other ultrasound parameters showed low interobserver reproducibility.. Before considering the method for clinical practice, it is necessary to identify the ideal minimum training and evaluate strategies to improve reproducibility.

Keywords: Breast Cancer; 3D Doppler indices; Ultrasonography; Reproducibility

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Fluxograma de Estudo.	31
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Idade, peso, estatura, e índice de massa corporal (IMC) dos participantes avaliados.....	32
Tabela 2: Diâmetro Máximo, Volume Convencional, Diâmetro Máximo utilizando Harmônica e Volume utilizando harmônica para os observadores 1 e 2 dos participantes avaliados.....	32
Tabela 3: Classificação das massas segundo observadores 1 e 2 pelo sistema BI RADS dos participantes avaliados.	33
Tabela 4: Velocidade Máxima, Índice de Pulsatilidade, Índice de Resistencia do vaso para observadores 1 e 2 dos participantes avaliados.....	33
Tabela 5: Volume 3D, VFI da Massa e VFI da área externa de 5mm para os observadores 1 e 2 dos participantes avaliados.....	34
Tabela 6: VFI de uma amostra de 1cm ³ mais vascularizada para os observadores 1 e 2 dos participantes avaliados	34
Tabela 7: Volume 3D da massa, VFI da massa e VFI-Shell (5mm) considerando apenas dos casos realizados e analisados pelo observador 2.....	35
Tabela 8: VFI da amostra 1cm ³ mais vascularizada considerando apenas casos realizados e analisados pelo observador 2	35
Tabela 9: vPI (STIC) para observadores 1 e 2 dos participantes avaliados.	35
Tabela 10: vPI (STIC) considerando apenas exames realizados e analisados pelo observador 2	36
Tabela 11: Idade, peso, estatura, índice de massa corpórea (IMC), diâmetro utilizando ou não harmônica e volume utilizando ou não harmônica considerando os observadores 1 e 2 de massas malignas e benignas das participantes avaliadas.....	36
Tabela 12: Índice de Pulsatilidade (PI), Índice de Resistência (RI), Velocidade Máxima (PS) para os observadores 1 e 2 das massas benignas e malignas dos participantes avaliados.....	37
Tabela 13: Volume 3D da massa, VFI da massa, VFI considerando a área de 5mm externa e VFI de 1cm ³ mais vascularizada considerando observadores 1 e 2 das massas benignas e malignas dos participantes avaliados.	38

Tabela 14: Volume 3D da massa, VFI da massa, VFI considerando a área de 5mm externa e VFI de 1cm ³ mais vascularizada das massas benignas e malignas considerando apenas exames realizados e analisados pelo observador 2.	38
Tabela 15: vPI (STIC) baseado no VFI da amostra de 1cm ³ do interior do nódulo considerada como sendo a mais vascularizada considerando os observadores 1 e 2 para massas benignas e malignas das pacientes avaliadas.	39
Tabela 16: vPI baseado no VFI da amostra de 1cm ³ do interior do nódulo considerada como sendo a mais vascularizada para massas benignas e malignas considerando exames realizados e analisados pelo observador 2.	39
Tabela 17: Área sob a curva ROC (AUROC) das variáveis Idade, Peso, Estatura e índice de massa corpórea (IMC) dos participantes avaliados.	39
Tabela 18: Área sob a curva ROC (AUROC) das variáveis Diâmetro Máximo com e sem Harmônica, Volume 3D, VFI da Massa, VFI Shell (5mm), VFI 1cm ³ mais vascularizada, vPI baseado no VFI da massa, Índice de Pulsatilidade (PI), Velocidade Máxima (PS), Índice de Resistência (RI) para o observador 1.	40
Tabela 19: Área sob a curva ROC (AUROC) das variáveis Diâmetro Máximo com e sem Harmônica, Volume 3D, VFI da Massa, VFI Shell (5mm), VFI 1cm ³ mais vascularizada, vPI baseado no VFI da massa, Índice de Pulsatilidade (PI), Velocidade Máxima (PS), Índice de Resistência (RI) para o observador 2.	40
Tabela 20: Coeficiente de Correlação de Concordância (CCC) considerando as variáveis e casos realizados e analisados pelos observadores 1 e 2.	41

LISTA DE SIGLAS

AUROC	Área sob a curva característica de operação de receptor
3D	Tridimensional
CCC	Coeficiente de correlação de concordância
CDIS	Carcinoma Ductal In Situ
DP	Desvio Padrão
E	Especificidade
Espec.	Especificidade
FI	Índice de Fluxo
FP	Falso Positivo
FN	Falso Negativo
HDA	Hiperplasia Ductal Atípica
IC	Intervalo de Confiança
IMC	Índice de Massa Corporal
IR	Índice de Resistencia
RI	Índice de Resistencia
PD-3D	Power Doppler 3D
PI	Índice de Pulsatilidade
PS	Velocidade Máxima
Prec.	Precisão
S	Sensibilidade
Sens.	Sensibilidade
Shell	Camada Externa
STIC	Índices de correlação de imagem espaço-temporal
VP	Verdadeiros Positivos
VN	Verdadeiros Negativos

VFI	Índice Fluxo-Vascularização
VI	Índice de Vascularização
VPN	Valor Preditivo Negativo
US	Ultrassonografia
US3D	Ultrassonografia 3D
US-2D	Ultrassonografia 2D
WPM	Refere-se ao pesquisador – Wellington de Paula Martins

Observação: Pela similaridade com as abreviaturas em português e pelo fato de muitas das abreviaturas em inglês serem amplamente utilizadas na prática clínica, optamos por manter aquelas utilizadas na literatura internacional, para facilitar o entendimento do leitor referente ao assunto.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
1.1 Importância do Câncer de Mama como problema de saúde	17
1.2 Relevância e limitações dos métodos de imagem no diagnóstico de câncer de mama	17
1.3 Doppler 3D no diagnóstico de câncer de mama - justificativa teórica e estudos existentes	18
 2 OBJETIVOS	 22
 3 MÉTODOS	 24
3.1 Desenho do Estudo	24
3.2 Contexto	24
3.3 Participantes	24
3.4 Variáveis	24
3.5 Avaliação de dados	25
3.6 Viés	27
3.7 Dimensionamento Amostral	28
3.8 Análise estatística	28
3.9 Aspectos éticos	29
 4 RESULTADOS	 31
 5 DISCUSSÃO	 43
5.1 Síntese dos principais resultados	43
5.2 Limitações do estudo	45
5.3 Implicações deste estudo para prática clínica	46
5.4 Implicações deste estudo para pesquisa	46
 6 CONCLUSÕES	 48
 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	 50

Introdução

1 INTRODUÇÃO

1.1 Importância do Câncer de Mama como problema de saúde

O câncer de mama é o mais frequentemente diagnosticado em mulheres, e a principal causa de morte por câncer em mulheres em todo o mundo, além da segunda maior causa de morte em nossa sociedade. É responsável por 23% (1,38 milhões) do total de casos novos de câncer ¹. O diagnóstico em estágios iniciais está associado com melhores taxas de sobrevivência e o diagnóstico de casos pré-clínicos pode ser benéfico ². Massa de mama é um dos principais achados iniciais em mulheres com câncer de mama ³. No entanto, aproximadamente 90% das massas são tumores benignos, tais como fibroadenomas e cistos ⁴. Fatores de risco para malignidade incluem: a idade, história prévia de câncer de mama e câncer de mama em parentes de primeiro grau ⁴. Neste contexto, as ferramentas não-invasivas que separam precisamente massas benignas de malignas poderiam evitar biópsias desnecessárias.

1.2 Relevância e limitações dos métodos de imagem no diagnóstico de câncer de mama

O diagnóstico em estágios iniciais está associado com melhores taxas de sobrevivência e o diagnóstico de casos pré-clínicos pode ser benéfico ¹. O diagnóstico para as massas mamárias inclui principalmente: o exame clínico, exames de imagem, e avaliação cito histopatológica. Estudo envolvendo mulheres sintomáticas, com exame clínico sugestivo de câncer de mama à palpação, mostrou diagnóstico correto em 93% dos casos ⁵. Embora o diagnóstico esteja correto na maioria dos casos sabe-se que não é tranquilizador para o médico e paciente. Os principais exames de imagem utilizados para diagnóstico são a mamografia, a ultrassonografia e a ressonância magnética. A mamografia é o método mais amplamente utilizado e divulgado, porém apresenta discreta redução da mortalidade por câncer de mama, sem redução na mortalidade global ⁶. A ressonância magnética (RM) é um teste de grande importância para a detecção do câncer de mama em pacientes com elevado risco familiar, porém entende-se que, atualmente, as suas indicações permanecem limitadas, devido ao alto custo e dificuldade de acesso ⁷. A

ultrassonografia (US) pode ser utilizada como adjuvante à mamografia em casos de achado clínico ou de mamografia anormal, ou como primeira escolha em situações especiais, como na gravidez, lactação, mulheres jovens e durante os estados inflamatórios da mama. Porém faltam evidências de sua eficácia na diminuição da mortalidade específica ou global do câncer de mama global ⁶.

A principal limitação da US é seu baixo valor preditivo positivo ⁸. Seu desempenho é limitado pelo tamanho da mama, a profundidade das lesões e a heterogeneidade do parênquima mamário. A US é dependente do operador, sendo que a sua reprodutibilidade inter-observador da classificação BI-RADS é considerada apenas moderada ⁹. A especificidade da US pode ser melhorada através do uso de critérios rigorosos para realização dos exames, além da aplicação de novas tecnologias como a harmônica, elastografia e Doppler. Alguns estudos concluíram que a imagem utilizando harmônica promove melhor avaliação de margem, qualidade geral da imagem e melhor caracterização de lesões ¹⁰. Entretanto, o uso da harmônica não parece aumentar o desempenho dos radiologistas para a diferenciação entre benigno e maligno ¹¹. A elastografia é outro método de imagem que avalia as propriedades elásticas dos tecidos e mostrou-se especialmente útil na avaliação de mamas densas, quando apresenta especificidade de 92,8% ^{12, 13}, e na avaliação de lesões com baixo potencial de malignidade evitando-se biópsias desnecessárias. No entanto, a variabilidade entre aquisição de dados e interpretação é considerada uma limitação importante para a utilização do método ¹⁴. Isso faz com que o método seja pouco reprodutível e extremamente dependente do examinador ¹⁵. A importância da US Doppler na diferenciação de massas foi testada em diversos estudos: o número, distribuição e morfologia dos vasos tumorais, além do cálculo do índice de resistência (IR). Apesar de alguns estudos mostrarem benefícios na diferenciação de massas benignas e malignas ¹⁶⁻¹⁸, um grande número de estudos renderam resultados não estatisticamente significantes ¹⁹⁻²¹.

1.3 Doppler 3D no diagnóstico de câncer de mama - justificativa teórica e estudos existentes

A ultrassonografia 3D (US3D) tem a vantagem de mostrar uma lesão em três dimensões, em um curto espaço de tempo de varredura, com reconstrução imediata.

As imagens 3D são obtidas após a reconstrução dos dados adquiridos em uma única varredura da região de interesse. Todas as características da lesão (forma, orientação, contorno, ecogenicidade, ecotextura, fenômenos acústicos posteriores e a presença de microcalcificações) são avaliados de forma mais abrangente e as imagens podem ainda ser revistas em múltiplos planos, incluindo o plano coronal, difícil de ser explorado na US bidimensional. De forma semelhante, a US com Power Doppler tridimensional (PD-3D) quantifica mais adequadamente o fluxo sanguíneo, além de realizar a análise por todos os planos ²².

Alguns trabalhos utilizaram US com *Power Doppler* tridimensional (PD-3D) para a diferenciação de nódulos mamários ²³⁻²⁵. Utilizando parâmetros baseados em escala de cinza e padrões e morfologias vasculares, autores encontraram acurácia de 88,69%, S=91,89%, E=85,45%, VPP = 86,44%, VPN=91,26% na diferenciação de lesões benignas e malignas ²³. Entretanto anormalidades morfológicas de vasos sanguíneos não necessariamente resultam em aumento de fluxo e a detecção da quantidade de vasos isoladamente pode ser insuficiente para diferenciar tumores benignos e malignos, já que ambos são vascularizados ²³. O *Power Doppler* 3D (PD-3D) também permite a análise e quantificação do fluxo de sangue dentro de estruturas corporais. Esta informação pode então ser quantificada para obterem-se três índices de vascularização: o índice de vascularização (VI), o índice de fluxo (FI) e o índice de fluxo-vascularização (VFI). VI é a média de voxels coloridos em relação a todos os voxels, em um dado volume de interesse; FI é o valor médio de todos os voxels coloridos no volume analisado; VFI é uma combinação das duas, calculado multiplicando-se os valores de VI e FI e dividindo o resultado por 100 ²⁶. Esses índices foram utilizados para diferenciação de nódulos mamários ²⁴. Associando-se esses dados com a idade da paciente e o tamanho do nódulo obteve-se uma área sob a curva ROC de 0,91, mostrando ser este um modelo promissor. Embora índices PD-3D pareçam ser capazes de ajudar a distinguir entre massas mamárias benignas e malignas, apenas um estudo com pequeno número de pacientes avaliou esses parâmetros e ainda há evidências insuficientes para sugerir a utilização deste método na prática clínica ²⁵. A aplicação na utilização ainda é limitada por serem necessárias máquinas especiais, treinamento, atenuação e alta dependência das configurações da máquina ²⁷. Os índices de impedância volumétricos derivados de correlação de imagem espaço-temporal (STIC) poderiam amenizar a influência dos

ajustes da máquina e atenuação no PDU ²⁸, tendo o potencial de ser úteis na prática clínica.

A reprodutibilidade também é fator importante para a utilização de PD-3D e STIC. Não encontramos na literatura médica dados sobre a reprodutibilidade e/ou validade dos índices de pulsatilidade volumétricos para a diferenciação de massas mamárias benignas e malignas. A avaliação dos estudos de reprodutibilidade pode nos ajudar a julgar os métodos e os instrumentos disponíveis e selecionar qual deles deve ser usado. No entanto, esses estudos precisam ser bem executados e seus resultados devem ser devidamente interpretados, caso contrário, eles são inúteis ou pode até causar confusão ²⁹⁻³¹. Um estudo utilizando artéria carótida comum mostrou que as curvas reconstruídas de VFI ao longo de um ciclo cardíaco utilizando STIC são reprodutíveis e assemelham-se as obtidas pela análise de Doppler espectral do vaso ³².

Objetivos

2 OBJETIVOS

Estimar a precisão diagnóstica e a reprodutibilidade dos seguintes métodos na avaliação de massas mamárias:

- Maior diâmetro e classificação de BI-RADS através do US-2D com e sem harmônica.
- Volume da massa utilizando US 3D.
- Velocidade máxima, IR e IP por ultrassonografia Doppler espectral de vasos dentro dos nódulos
- Quantificação do sinal Doppler 3D pelos índices VI, FI, VFI da massa e do tecido mamário circundante (Shell) de 5mm.
- Quantificação do sinal Doppler 3D pelos índices VI, FI e VFI de uma amostra esférica de 1cm^3 da região considerada subjetivamente como sendo a mais vascularizada do tumor.
- vPI baseado no VFI da amostra de 1cm^3 considerada subjetivamente como sendo a mais vascularizada do tumor.

Métodos

3 MÉTODOS

3.1 Desenho do Estudo

Este trabalho consiste em um estudo observacional tipo coorte de avaliação de precisão diagnóstica e determinação de reprodutibilidade do método.

3.2 Contexto

Mulheres examinadas na clínica privada ou do Hospital do Câncer – FUNDAÇÃO SOBECCAN em Ribeirão Preto, que tinham lesões clínicas ou subclínicas mamárias, visualizadas na ultrassonografia e que foram submetidas à biópsia cirúrgica ou com agulha grossa (“core biopsy”) incluídas por conveniência (não consecutivas). As mulheres foram convidadas a participar do estudo entre 2015 e 2018 e os exames foram realizados no setor de Reprodução Humana do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HC-FMRP-USP).

3.3 Participantes

Foram consideradas elegíveis pacientes com lesões mamárias identificadas por ultrassonografia maiores que 1 cm, que estivessem sido agendadas para realizar biópsia cirúrgica ou com agulha grossa (*core biopsy*); que comparecem no dia da avaliação ultrassonográfica; e que aceitassem participar da pesquisa após assinar termo de consentimento livre e esclarecido.

3.4 Variáveis

Os seguintes dados foram avaliados nesta pesquisa: Nome da paciente; Data de Nascimento; Data da realização do exame; Idade; Peso; Altura; Índice de Massa Corpórea (IMC); Antecedentes de neoplasia mamária e ovário; Patologias prévias; Medicamentos em uso; Classificação BI-RADS® para nódulos de mama utilizando a ultrassonografia convencional; Classificação BI-RADS® para nódulos de mama utilizando a ultrassonografia harmônica; IR e IP de vasos avaliados dentro dos

nódulos por ultrassonografia Doppler espectral; VI, FI e VFI da massa e do volume externo (Shell) de 5mm; VI, FI, VFI e vPI derivado do VFI de uma amostra esférica de 1cm³ considerada como sendo a mais vascularizada do tumor; Resultado histológico das biópsias (maligno ou benigno).

3.5 Avaliação de dados

As pacientes que se encaixaram nos critérios de inclusão e com massas mamárias que foram submetidas a diagnóstico histológico (cirurgia ou por “core biopsy”) foram avaliadas por um ou por dois examinadores dependendo da presença do segundo observador. Caso fosse avaliada por 2 examinadores os exames foram sequencialmente e com apenas um observador na sala de forma que o resultado de um examinador não influenciasse o resultado do segundo observador. Os parâmetros descritos foram avaliados no dia da realização do exame: idade (diferença entre o dia da avaliação e a data de nascimento), peso (utilizamos uma balança convencional), estatura, IMC (calculando-se pela fórmula $IMC = \text{peso}/\text{estatura}^2$), doenças prévias (comprovadas durante a anamnese da paciente), medicações (descritas mediante o receituário ou anamnese da paciente), antecedentes familiares de neoplasia de mama e ovário (comprovando-se durante a anamnese da paciente). A avaliação histológica foi realizada em todas as pacientes no mesmo laboratório com intervalo de no máximo 30 dias. No caso de pacientes com mais de um nódulo, apenas o com o maior diâmetro máximo foi incluído na análise. Caso houvesse empate nesse critério, seria incluído o com o maior diâmetro médio.

Os exames foram realizados em equipamento Voluson E8, utilizando uma sonda linear de 7,5-13MHz em uma sala com temperatura controlada (20-25 graus Celsius), na posição decúbito dorsal com abdução de membros superiores por dois observadores. O observador 1 é especialista em mastologia com experiência de cerca de 7 anos na realização de US de Mamas (Cerca de 1-2 exames por semana) e Biópsias dirigidas por US (Cerca de 1-2 Biópsias por Mês). O observador 2 é especialista em ultrassonografia, com experiência de cerca de 9 anos na realização de US de mamas (Cerca de 20-40 exames por semana) e Biópsias dirigidas por US (Cerca de 40-60 biópsias por mês). Os observadores realizaram 2 avaliações no total (1 avaliação pelo observador A e 1 avaliação pelo Observador B) sobre a medida do diâmetro máximo e médio das massas mamárias:

- US 2D: terminologia e classificação BI-RADS. Avaliação do risco de malignidade com e sem harmônica, através da graduação proposta.

- US Doppler 2D, avaliando a velocidade máxima, índice de pulsatilidade e resistência do vaso intratumoral que subjetivamente seja o que apresenta maior velocidade de fluxo sanguíneo.

- US Doppler 3D, avaliando VI, FI e VFI de todo o nódulo, do volume externo (shell) de 5mm, e da relação entre os índices encontrados no interior do nódulo / volume externo.

- US Doppler 3D, avaliando VI, FI e VFI de uma amostra de 1 cm³ do interior do nódulo que foi subjetivamente considerada como sendo a mais vascularizada.

- US Doppler STIC, avaliando o vPI baseado no VFI da amostra de 1cm³ do interior do nódulo que foi subjetivamente considerada como sendo a mais vascularizada. Esta avaliação só foi possível quando o software identificava automaticamente a frequência cardíaca pela pulsatilidade observada no modo Power Doppler.

As pacientes após a avaliação, pelo mesmo observador, foram encaminhadas para a realização de biópsia em laboratório de radiologia localizado na cidade de Ribeirão Preto em até 15 dias. Os radiologistas que fizeram o procedimento da biópsia têm experiência de mais de 15 anos em procedimentos guiados em mama e foram orientados com exatidão pelos observadores da pesquisa sobre qual o nódulo que seria biopsiado para a pesquisa.

Os espécimes provenientes das biópsias foram encaminhados para o laboratório de patologia localizado em Ribeirão Preto em frascos contendo o fixador formaldeído a 10% tamponado. O material permaneceu 12 horas nesse líquido para adequada fixação. O fragmento então passou por banhos de soluções crescentes da mistura etanol e água para desidratação (Etanol a 70% até 100%). Depois do processo de desidratação, o etanol existente no tecido foi substituído por uma substância intermediária, o Xilol, deixando o material translúcido. A seguir o material foi colocado em parafina aquecida a 60° C, e com a evaporação do solvente os espaços foram preenchidos com parafina. Dessa forma o tecido tornou-se rígido e foi colocado em um bloco de parafina para o corte. Os blocos de parafina foram então levados a um micrótomo e cortados na espessura de três micrômetros. Após a secção os cortes foram colocados para flutuar em água aquecida, de onde foram

colocados em lâminas de vidro. A coloração foi feita com Hematoxilina, que cora de azul os núcleos das células, e a Eosina que cora o citoplasma da cor rosa.

As lesões mais frequentemente encontradas na mama são as lesões epiteliais proliferativas benignas, pré-malignas e malignas. As lesões epiteliais proliferativas benignas não mostram atipias celulares e são representadas, predominantemente, por fibroadenomas (onde há proliferação epitelial e estromal, ambos sem atipias), Hiperplasia ductal típica, Adenose, entre outras. Os três tipos de lesões mamárias pré-malignas são carcinoma ductal *in situ* (CDIS), hiperplasia ductal atípica (HDA) e carcinoma ductal *in situ* com microinvasão. O CDIS é definido como proliferação epitelial de células atípicas, que envolve completamente dois "espaços" ou ductos, e mede em conjunto mais de 2 a 3 mm. O diagnóstico de HDA é feito por exclusão e deve ser feita quando elementos que definem citologicamente e histologicamente CDIS de baixo grau estão presentes, porém incompletamente. A HDA envolve menos que dois "espaços" ou ductos, ou mede em conjunto menos de 2 a 3 mm. O diagnóstico de microinvasão é feito quando existe CDIS predominante e infiltração de células neoplásicas além da membrana basal no tecido conjuntivo não-especializado ou extra-lobular até 1 mm na maior dimensão. O grau nuclear é determinado pelo tamanho do núcleo em relação a uma célula ductal normal, padrão da cromatina e de nucléolos evidentes. O grau histológico é determinado pelo grau de atipia nuclear acrescido da presença e extensão de necrose. Finalmente as lesões epiteliais malignas mais frequentes são o Carcinoma ductal infiltrativo e o Carcinoma lobular infiltrativo. Nos carcinomas ductais infiltrativos, notam-se células epiteliais atípicas, invadindo o estroma, formando arranjos tubulares e sólidos. Nos carcinomas lobulares infiltrativos, notam-se células epiteliais levemente atípicas, invadindo o estroma, formando arranjos trabeculares e em fileiras. O estroma mamário reage ao processo de infiltração neoplásica e são observados aspectos de desmoplasia, de infiltrado inflamatório e até de necrose. Ambos os carcinomas são graduados através da classificação de Scarff-Bloom-Richardson modificado por Elston-Ellis-Nottingham (onde são observados o índice mitótico, o grau de atipia nuclear e a formação tubular).

3.6 Viés

Todas as pacientes incluídas foram analisadas. As avaliações, quando feitas por dois examinadores, foram realizadas no mesmo dia em tempos sequenciais e com mascaramento. A análise de dados 3D foi feita de forma independente e com

mascamamento. As avaliações histológicas foram realizadas por patologistas com extensa experiência em avaliação de mama (15 a 45 anos de experiência com patologia mamária).

3.7 Dimensionamento Amostral

O tamanho amostral foi determinado em 102 mulheres de forma a se ter um poder de 80% para detectar áreas sob a curva ROC acima de 0,75, considerando que a proporção de casos malignos será de 10%. Além disso, com esse tamanho amostral, consegue-se ter uma precisão satisfatória nas estimativas do CCC: a largura do intervalo de confiança será menor que 0,2, nos casos em que o CCC seja maior que 0,70, que é considerado como um padrão mínimo de reprodutibilidade para utilizar o método em pesquisas ou prática clínica.

3.8 Análise estatística

A análise estatística foi realizada por estatístico do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia (SCM) utilizando o programa R version 3.5.2 (Eggshell Igloo).

Inicialmente, avaliamos os dados referentes às características demográficas da amostra. Realizamos a avaliação da normalidade da distribuição dos dados, que foram apresentados como: média, desvio padrão e mediana (desvio interquartil). Depois avaliamos a precisão diagnóstica de todos os métodos através área sob a curva ROC. Foram realizadas uma análise primária de precisão diagnóstica das variáveis demográficas e ultrassonográficas considerando casos do observador 1 e uma análise secundária considerando os parâmetros ultrassonográficos em que o observador 2 analisou casos realizados pelo observador 1.

Para a avaliação da reprodutibilidade, determinamos o coeficiente de correlação de concordância e os limites de concordância com os respectivos gráficos de Bland-Altman. Foi feita a análise considerando apenas casos realizados e analisados por ambos os observadores. A precisão das estimativas foi avaliada pelo seu respectivo intervalo de confiança de 95%.

3.9 Aspectos éticos

Todas as pacientes foram convidadas a participar do estudo e foi necessário que todas assinassem um termo de consentimento livre e esclarecido para participarem da pesquisa. Este projeto foi submetido à avaliação do comitê de ética em pesquisa do HC-FMRP-USP. Não há riscos descritos para realização de exames de ultrassonografia mamária, os quais são realizados, como complementares a mamografia em diversas situações ³³.

Resultados

4 RESULTADOS

Foram submetidas ao exame ultrassonográfico 102 pacientes no período de agosto de 2015 a junho de 2018. Do total de pacientes, 48 foram avaliadas pelo observador 1 e 54 por ambos os observadores. As avaliações, quando realizadas por dois examinadores, foram feitas no mesmo dia em tempos sequenciais e com mascaramento. A biópsia foi realizada no mesmo nódulo em até 30 dias da coleta de dados. A análise de dados 3D foi feita de forma independente e com mascaramento. A análise 3D foi realizada pelos 2 observadores em todos os casos. As avaliações histológicas foram realizadas por patologistas com extensa experiência em avaliação de mama (15 a 45 anos de experiência com patologia mamária).

Figura 1 - Fluxograma de Estudo.

Fonte: O autor

A idade média, peso, estatura e IMC (kg/m^2) dos participantes são expressos na tabela 1. Apenas 16 pacientes dentre as 102 (15,6%) tinham algum antecedente de Câncer de Mama ou Ovário na Família. As medicações eram utilizadas por 63 pacientes (61,7%) sendo o principal grupo de medicamentos os Anti-Hipertensivos (23,5%) e os Contraceptivos Hormonais (22,54%). Das 102 pacientes, 49 (48,0%) apresentavam alguma patologia, sendo a principal Hipertensão Arterial Sistêmica (25,4%). Os dados são expressos na tabela abaixo:

Tabela 1: Idade, peso, estatura, e índice de massa corporal (IMC) dos participantes avaliados.

	N	Média	DP	Mediana	P25-75	Min-Max
Idade (anos)	102	44,8	15,0	43,1	33,4-55,8	18,0-81,9
Peso (kg)	102	68,7	14,0	66,0	57,0-77,8	45,0-110,0
Estatura (cm)	102	161,5	6,1	161,0	157,2-165,0	146,0-179,0
IMC (kg/m^2)	102	26,4	5,3	25,6	22,4-29,7	16,1-40,2

N = Número de participantes; DP = desvio padrão, P25-75 = percentis 25 e 75; Min-Max = mínimo-máximo.

Utilizando ultrassonografia convencional 2D obtivemos dados de 102 pacientes pelo observador 1 e 54 pacientes pelo observador 2. Os dados são expressos na tabela abaixo:

Tabela 2: Diâmetro Máximo, Volume Convencional, Diâmetro Máximo utilizando Harmônica e Volume utilizando harmônica para os observadores 1 e 2 dos participantes avaliados.

	N	Média	DP	Mediana	P25-75	Min-Max
Ob 1 – Diam Máx (cm)	102	1,97	0,74	1,80	1,34-2,49	1,00-3,86
Ob 2 – Diam Máx (cm)	54	1,98	0,86	1,78	1,40-2,29	0,78-4,54
Ob 1 – Vol Conv (cm^3)	102	2,80	3,64	1,42	0,57-3,59	0,17-23,06
Ob 2 – Vol Conv (cm^3)	54	3,72	5,51	1,71	0,52-4,18	0,06-26,42
Ob 1–Diâm Máx-Harm (cm)	102	1,97	0,75	1,81	1,43-2,39	0,83-4,18
Ob 2–Diâm Máx-Harm (cm)	54	2,07	0,97	1,92	1,36-2,48	0,86-4,97
Ob 1 – Vol – Harm (cm^3)	102	2,72	3,61	1,47	0,62-3,38	0,16-24,72
Ob 2 – Vol – Harm (cm^3)	54	3,12	4,71	1,43	0,44-3,38	0,10-22,37

Ob1 = observador 1; Ob2 = Observador 2; Diam Máx = Diâmetro Máximo da massa; Vol Conv = Volume Convencional; Diam Máx-Harm = Diâmetro Máximo utilizando harmônica; Vol – Harm = Volume da massa utilizando harmônica; N = Número de participantes; DP = desvio padrão, P25-75 = percentis 25 e 75; Min-Max = mínimo-máximo

As pacientes também foram classificadas conforme a classificação de BI RADS conforme a tabela abaixo:

Tabela 3: Classificação das massas segundo observadores 1 e 2 pelo sistema BI RADS dos participantes avaliados.

	B4A	B4B	B4C	B5	Outros
Ob1	64,7	13,7	5,9	15,7	0,0
Ob2	50,0	18,5	12,9	11,1	7,5

Ob1 = Observador 1; Ob2 = Observador 2; B4A – Bi Rads 4 A(%); B4B = Bi Rads 4B (%); B4C – Bi Rads 4C (%); B5 = Bi Rads 5 (%)

Utilizando o US Power Doppler 2D, a presença de vasos internos foi identificada em 75/102 (73,5%) casos pelo observador 1 e em 38/54 (70,3%) para o observador 2. Dos casos avaliados por ambos (54) o observador 1 identificou a presença de vasos internos em 41/54 casos (75,9%). Avaliou-se a velocidade máxima (PS), índice de pulsatilidade (PI) e resistência do vaso intratumoral (RI) do vaso identificado que subjetivamente apresentou a maior velocidade de fluxo sanguíneo. Alguns dados não foram possíveis de serem obtidos devido ao calibre do vaso ou atenuação vascular. Os resultados são expressos na Tabela 4 que segue abaixo:

Tabela 4: Velocidade Máxima, Índice de Pulsatilidade, Índice de Resistencia do vaso para observadores 1 e 2 dos participantes avaliados.

	N	Média	DP	Mediana	P25-75	Min-Máx
Ob 1 – Vel Máx-PS (cm/s)	69	7,90	3,80	6,93	5,56-9,22	2,29-22,61
Ob 2 – Vel Máx-PS (cm/s)	38	6,80	3,47	5,93	3,78-9,41	3,10-15,23
Ob 1 – Índ. Pulsatilid (PI)	64	2,11	1,24	1,88	1,27-2,74	0,00-7,02
Ob 2 – Índ. Pulsatilid (PI)	20	1,63	0,50	1,63	1,27-1,98	0,70-2,41
Ob 1 – Resist. Do Vaso (RI)	68	0,83	0,15	0,87	0,75-0,97	0,45-0,97
Ob 2 – Resist. Do Vaso (RI)	38	0,74	0,17	0,74	0,60-0,83	0,43-1,00

Ob1 = observador 1; Ob2 = Observador 2; Vel Máx-PS = Pico Sistólico (cm/s); Índ. Pulsatilid (PI) = Índice de Pulsatilidade; Resist. Do Vaso (RI) = Resistência do Vaso; N = Número de participantes; DP = desvio padrão, P25-75 = percentis 25 e 75; Min-Max = mínimo-máximo

Utilizando a ultrassonografia 3D, 99 pacientes foram analisadas pelo observador 1 e 98 pelo observador 2. A exclusão de 3 pacientes pelo observador 1 e 4 pacientes pelo observador 2 foram devido à falta de dados sobre o Power Doppler 3D (perda de dados armazenados). Os dados são expressos na tabela a seguir:

Tabela 5: Volume 3D, VFI da Massa e VFI da área externa de 5mm para os observadores 1 e 2 dos participantes avaliados.

	N	Média	DP	Mediana	P25-75	Min-Max
Ob 1 – Vol 3D (cm ³)	99	3,21	3,54	2,29	0,96-3,99	0,26-22,37
Ob 2 – Vol 3D (cm ³)	98	2,50	3,31	1,29	0,51-3,03	0,07-17,93
Ob 1 – VFI Massa	101	0,57	1,04	0,23	0,05-0,75	0,00-8,45
Ob 2 – VFI Massa	97	0,57	0,85	0,23	0,05-0,78	0,00-4,79
Ob 1 – VFI – Shell (5mm)	100	0,63	1,28	0,31	0,16-0,77	0,00-12,01
Ob 2 – VFI – Shell (5mm)	100	0,64	0,71	0,36	0,19-0,86	0,00-4,17

Ob1 = observador 1; Ob2 = Observador 2; Vol 3D (cm³) = Volume 3D calculado; VFI Massa= Índice Velocidade-Fluxo da massa; VFI-Shell (5mm) = Índice Velocidade-Fluxo da parte mais externa da massa (5mm); N = Número de participantes; DP = desvio padrão, P25-75 = percentis 25 e 75; Min-Max = mínimo-máximo

Considerando a análise de todas as pacientes (102), cálculo do VFI de uma amostra de 1 cm³ do interior do nódulo, que foi subjetivamente considerada como sendo a mais vascularizada. Foram realizadas 75 análises de pacientes pelo observador 1 e 85 análises de pacientes pelo observador 2. Em 24 pacientes para o observador 1 e 13 pacientes para o observador 2 não foram encontradas vascularização dentro da massa, portanto não foi possível o cálculo. Os resultados são expressos na tabela abaixo:

Tabela 6: VFI de uma amostra de 1cm³ mais vascularizada para os observadores 1 e 2 dos participantes avaliados

	N	Média	DP	Mediana	P25-75	Min-Max
Ob 1- VFI - 1cm ³ Mais Vasc	75	1.18	1,58	0,66	0,27-1,45	0,01-10,06
Ob 2 – VFI - 1cm ³ Mais Vas	85	0.80	1,32	0,28	0,10-1,11	0,00-9,80

Ob1 = observador 1; Ob2 = Observador 2; VFI-1cm³ Mais Vasc = Índice Velocidade-Fluxo de 1cm³ mais vascularizada da massa; N = Número de participantes; DP = desvio padrão, P25-75 = percentis 25 e 75; Min-Max = mínimo-máximo

Considerando os dados de ultrassonografia 3D nos casos realizados e analisados pelo observador 2 (54 casos), dados estavam disponíveis para 52 pacientes para as variáveis Volume 3D e VFI – Shell (5mm) e para 51 pacientes para VFI da massa. Os dados são expressos na tabela a seguir:

Tabela 7: Volume 3D da massa, VFI da massa e VFI-Shell (5mm) considerando apenas dos casos realizados e analisados pelo observador 2

	N	Média	DP	Mediana	P25-75	Min-Max
Ob 2 – Vol 3D (cm ³)	52	2,99	4,04	1,76	0,45-3,88	0,15-17,93
Ob 2 – VFI Massa	51	0,65	0,93	0,29	0,07-0,84	0,00-4,79
Ob 2 – VFI – Shell (5mm)	52	0,75	0,79	0,45	0,26-0,94	0,02-4,17

Ob2 = Observador 2; Vol 3D (cm³) = Volume 3D calculado; VFI Massa= Índice Velocidade-Fluxo da massa; VFI-Shell (5mm) = Índice Velocidade-Fluxo da parte mais externa da massa (5mm); N = Número de participantes; DP = desvio padrão, P25-75 = percentis 25 e 75; Min-Max = mínimo-máximo

O cálculo do VFI de uma amostra de 1 cm³ do interior do nódulo que foi subjetivamente considerada como sendo a mais vascularizada também foi feito para pacientes submetidas ao exame exclusivamente pelo observador 2 (39 pacientes). Dentre os exames realizados pelo observador 2, em 12 pacientes não foram encontradas vascularização dentro da massa, portanto não foi realizado o cálculo. Os resultados são expressos na tabela abaixo:

Tabela 8: VFI da amostra 1cm³ mais vascularizada considerando apenas casos realizados e analisados pelo observador 2

	N	Média	DP	Mediana	P25-75	Min-Max
Ob 2- VFI - 1cm ³ Mais Vasc	39	1,09	1,09	0,45	0,15-1,39	0,00-9,80

Ob2 = Observador 2; VFI-1cm³ Mais Vasc = Índice Velocidade-Fluxo de 1cm³ mais vascularizada da massa; N = Número de participantes; DP = desvio padrão, P25-75 = percentis 25 e 75; Min-Max = mínimo-máximo

Utilizando US Doppler STIC, o vPI baseado no VFI da amostra de 1cm³ do interior do nódulo, que foi subjetivamente considerada como sendo a mais vascularizada foi possível a análise em 51 casos pelo observador 1 e 53 casos pelo observador 2. Os dados foram possíveis apenas nesse número de pacientes, pois essa avaliação foi realizada durante 2 tentativas, e caso não houvesse sucesso determinou-se que não fosse mais medido. Os dados são expressos na tabela abaixo:

Tabela 9: vPI (STIC) para observadores 1 e 2 dos participantes avaliados.

	N	Média	DP	Mediana	P25-75	Min-Max
Ob 1 – vPI (STIC)	51	1,14	0,86	1,16	0,46-1,33	0,04-4,87
Ob 2 – vPI (STIC)	53	1,26	0,98	1,16	0,59-1,47	0,02-4,65

Ob1 = observador 1; Ob2 = Observador 2; vPI (STIC) = Índices de impedância volumétricos derivados de correlação de imagem espaço-temporal; N = Número de participantes; DP = desvio padrão, P25-75 = percentis 25 e 75; Min-Max = mínimo-máximo

Foram realizadas também as análises de US Doppler STIC e vPI baseado no VFI da amostra de 1cm³ do interior do nódulo, que foi subjetivamente considerada como sendo a mais vascularizada das pacientes submetidas a ultrassonografia e analisadas pelo observador 2 (25/51). O resultado é expresso na tabela abaixo:

Tabela 10: vPI (STIC) considerando apenas exames realizados e analisados pelo observador 2

	N	Média	DP	Mediana	P25-75	Min-Máx
Ob 2 – vPI (STIC)	25	1,34	1,14	1,22	0,61-1,73	0,02-4,65

Ob2 = Observador 2; vPI (STIC) = Índices de impedância volumétricos derivados de correlação de imagem espaço-temporal; N = Número de participantes; DP = desvio padrão, P25-75 = percentis 25 e 75; Min-Max = mínimo-máximo

As pacientes submetidas à ultrassonografia convencional e 3D foram encaminhadas para biópsia dos nódulos, sendo 27 pacientes com histologia maligna (26,47%) e 75 pacientes com histologia benigna (73,53%).

Com respeito aos dados, houve diferença estatística significativa na idade média dos grupos de pacientes com histologia maligna de 56,03 anos ($\pm$ 14,35 anos) e 40,79 anos ($\pm$ 13,09 anos) para benigna ($p < 0,001$). As variáveis: peso, altura e IMC não tiveram diferença entre os grupos com massas benignas e malignas ($p=0,66$; $p=0,701$ e $p=0,81$ respectivamente). Utilizando ultrassonografia convencional, com e sem harmônica, o diâmetro máximo e volume das massas benignas e malignas não tiveram diferença estatística significativa para ambos os observadores ($p>0,05$). Os resultados são expressos na tabela abaixo:

Tabela 11: Idade, peso, estatura, índice de massa corpórea (IMC), diâmetro utilizando ou não harmônica e volume utilizando ou não harmônica considerando os observadores 1 e 2 de massas malignas e benignas das participantes avaliadas.

	Maligno (N Total = 27)			Benigno (N Total = 75)			p
	N	Média	DP	N	Média	DP	
Idade (Anos)	27	56,03	14,35	75	40,79	13,09	<0,001
Peso (kg)	27	69,31	13,37	75	68,52	14,32	0,77
Estatura (cm)	27	161,52	6,28	75	161,52	6,04	0,91
IMC (kg/m ²)	27	26,68	5,66	75	26,25	5,12	0,88
Ob1ConDiamMax (cm)	27	1,96	0,62	75	1,98	0,79	0,68
Ob2ConDiamMax (cm)	27	2,01	0,63	36	1,97	0,96	0,41
Ob1ConVol (cm ³)	27	2,47	2,12	75	2,93	4,06	0,47
Ob2ConVol (cm ³)	18	3,48	3,45	36	3,85	6,34	0,31
Ob1HarDiamMax (cm)	27	1,91	0,64	75	2,01	0,79	0,88
Ob2HarDiamMax (cm)	17	2,01	0,73	34	2,11	1,08	0,92
Ob1HarVol (cm ³)	27	2,42	2,27	75	2,84	4,01	0,61
Ob2HarVol (cm ³)	18	2,71	2,66	36	3,34	5,49	0,38

Ob1 = observador 1; Ob2 = Observador 2; ConDiamMax = Diâmetro Máximo da massa; ConVol = Volume Convencional; HarDiamMax = Diâmetro Máximo utilizando harmônica; HarVol = Volume da massa utilizando harmônica; N = Número de participantes; DP = desvio padrão; p = teste p (Mann-Whitney)

Na análise do Power Doppler 2D avaliou-se a velocidade máxima (PS), índice de pulsatilidade (PI) e resistência do vaso intratumoral (RI) do vaso identificado, que subjetivamente apresentou a maior velocidade de fluxo sanguíneo entre massas benignas e malignas. Apenas a velocidade máxima para o observador 2 foi diferente entre as massas ($p=0,02$; AUROC=0,72). Os valores são expressos na tabela abaixo:

Tabela 12: Índice de Pulsatilidade (PI), Índice de Resistência (RI), Velocidade Máxima (PS) para os observadores 1 e 2 das massas benignas e malignas dos participantes avaliados

	Maligno (N total = 27)			Benigno (N total = 75)			p
	N	Media	DP	N	Media	DP	
Ob 1 PI	22	2,38	1,46	42	1,98	1,11	0,21
Ob 2 PI	7	1,65	0,45	13	1,62	0,54	0,96
Ob 1 RI	25	0,85	0,13	43	0,82	0,16	0,61
Ob 2 RI	15	0,76	0,13	23	0,73	0,19	0,47
Ob 1 PS (cm/s)	25	8,99	4,75	44	7,28	3,02	0,20
Ob 2 PS (cm/s)	15	8,42	4,09	23	5,74	2,59	0,02

Ob1 = observador 1; Ob2 = Observador 2; PS = Pico Sistólico (cm/s); PI = Índice de Pulsatilidade; RI= Resistência do Vaso; N = Número de participantes; DP = desvio padrão, p=teste p (Mann-Whitney).

Na análise da ultrassonografia 3D, um total de 99 massas (27 Malignas e 72 Benignas) foram analisadas pelo observador 1 e 98 massas (27 Malignas e 71 Benignas) pelo observador 2. Houve diferença na avaliação das variáveis VFI da massa e VFI do volume externo (Shell de 5mm) entre massas benignas e malignas apenas para o observador 2 ($p=0,007$ e $p=0,008$ respectivamente).

O VFI de uma amostra de 1 cm³ do interior do nódulo que foi subjetivamente considerada como sendo a mais vascularizada foi avaliado apenas em 75 pacientes pelo observador 1 e em 85 pacientes pelo 2, pois não foi visualizado vasos no interior das demais massas. A comparação entre massas benignas e malignas foi estatisticamente significativa na avaliação do observador 2 ($p=0,002$). Os resultados são expressos na Tabela 13 que segue a seguir:

Tabela 13: Volume 3D da massa, VFI da massa, VFI considerando a área de 5mm externa e VFI de 1cm³ mais vascularizada considerando observadores 1 e 2 das massas benignas e malignas dos participantes avaliados.

	Maligno (N total = 27)			Benigno (N total = 72)			
	N	Media	DP	N	Média	DP	p
Ob1Vol3D (cm ³)	27	2,91	2,31	72	3,32	3,91	0,64
Ob2Vol3D (cm ³)	27	2,34	2,32	71	2,57	3,63	0,52
Ob1VFIMassa	27	0,62	0,7	72	0,56	1,14	0,08
Ob2VFIMassa	27	0,96	1,15	71	0,43	0,66	0,007
Ob1VFIShell	27	0,64	0,76	72	0,64	0,3	0,48
Ob2VFIShell	27	0,91	0,77	71	0,55	0,67	0,008
Ob1VFI1cm ³	25	1,12	1,09	50	1,21	1,79	0,64
Ob2VFI1cm ³	25	1,4	1,99	60	0,55	0,82	0,002

Ob1 = observador 1; Ob2 = Observador 2; Vol3D (cm³) = Volume 3D calculado; VFIMassa= Índice Velocidade-Fluxo da massa; VFIShell (5mm) = Índice Velocidade-Fluxo da parte mais externa da massa (5mm); VFI1cm³= Índice Velocidade-Fluxo de 1cm³ mais vascularizada da massa; N = Número de participantes; DP = desvio padrão; p=teste p (Mann-Whitney).

Em outra análise, quando se considerou apenas os casos em que o observador 2 realizou e analisou os exames (54 casos), os resultados foram semelhantes aos anteriores. Os resultados são expressos na tabela abaixo:

Tabela 14: Volume 3D da massa, VFI da massa, VFI considerando a área de 5mm externa e VFI de 1cm³ mais vascularizada das massas benignas e malignas considerando apenas exames realizados e analisados pelo observador 2.

	Maligno (N total =18)			Benigno (N total =36)			
	N	Média	DP	N	Média	DP	P
Ob2Vol3D	18	3,22	2,61	34	3,16	4,64	0,46
Ob2VFImassa	18	1,05	1,24	33	0,43	0,63	0,01
Ob2VFIShell	18	1,03	0,76	34	0,61	0,78	0,01
Ob2VFI1cm ³	16	1,66	2,35	23	0,69	1,03	0,01

Ob2 = Observador 2; Vol3D (cm³) = Volume 3D calculado; VFIMassa= Índice Velocidade-Fluxo da massa; VFIShell (5mm) = Índice Velocidade-Fluxo da parte mais externa da massa (5mm); VFI1cm³= Índice Velocidade-Fluxo de 1cm³ mais vascularizada da massa; N = Número de participantes; DP = desvio padrão; p=teste p (Mann-Whitney).

Dentre todos os casos com dados disponíveis (99), o vPI baseado no VFI da amostra de 1cm³ do interior do nódulo (STIC), que foi subjetivamente considerada como sendo a mais vascularizada foi obtido em 53 casos para o observador 2 e 51 casos para o observador 1. A variável teve diferença estatística entre massas malignas e benignas apenas para o observador 2 (p=0,04). Os dados são expressos na tabela a seguir:

Tabela 15: vPI (STIC) baseado no VFI da amostra de 1cm³ do interior do nódulo considerada como sendo a mais vascularizada considerando os observadores 1 e 2 para massas benignas e malignas das pacientes avaliadas.

	Maligno (Total N =27)			Benigno (Total N =72)			p
	N	Média	DP	N	Média	DP	
Ob1- vPI	16	1,09	0,73	35	1,17	0,92	0,96
Ob2 - vPI	16	0,85	0,53	37	1,44	1,08	0,04

Ob1 = Observador 1; Ob2 = Observador 2; vPI (STIC) = Índices de impedância volumétricos derivados de correlação de imagem espaço-temporal; N = Número de participantes; DP = desvio padrão; p=teste p (Mann-Whitney).

Na análise secundária, quando consideramos apenas os casos realizados e analisados pelo observador 2 (54 casos) não houve significância estatística (p=0,14). Os resultados estão expressos na tabela abaixo:

Tabela 16: vPI baseado no VFI da amostra de 1cm³ do interior do nódulo considerada como sendo a mais vascularizada para massas benignas e malignas considerando exames realizados e analisados pelo observador 2.

	Maligno (Total N =18)			Benigno (Total N =36)			p
	N	Média	DP	N	Média	DP	
Observador 2 - vPI	11	0,89	0,58	14	1,7	1,35	0,14

Ob2 = Observador 2; vPI (STIC) = Índices de impedância volumétricos derivados de correlação de imagem espaço-temporal; N = Número de participantes; DP = desvio padrão; p=teste p (Mann-Whitney).

Na análise de precisão diagnóstica, considerando as variáveis demográficas, a variável idade atingiu a área sob a curva ROC > 0,7.

Tabela 17: Área sob a curva ROC (AUROC) das variáveis Idade, Peso, Estatura e índice de massa corpórea (IMC) dos participantes avaliados.

	AUROC	95% IC		p
Idade (Anos)	0.78	0.67	0.88	<0,001
Peso (Kg)	0.51	0.39	0.64	0,77
Estatura (cm)	0.50	0.37	0.64	0,90
IMC (kg/m ²)	0.50	0.37	0.64	0,88

AUROC = Área sob a curva ROC; 95% IC = Intervalo de confiança (95%), p=teste p (Mann-Whitney).

Considerando a avaliação realizada pelos observadores 1 e 2 através do US 2D convencional e pelo US 3D, os parâmetros VFI da Massa, VFI Shell (5mm) e VFI 1cm³ para o observador 2 atingiram AUROC > 0,7.

Tabela 18: Área sob a curva ROC (AUROC) das variáveis Diâmetro Máximo com e sem Harmônica, Volume 3D, VFI da Massa, VFI Shell (5mm), VFI 1cm³ mais vascularizada, vPI baseado no VFI da massa, Índice de Pulsatilidade (PI), Velocidade Máxima (PS), Índice de Resistência (RI) para o observador 1.

	AUROC	IC 95%	p
US Conv Diam Max	0,52	0,40-0,64	0,68
US Conv Volume	0,54	0,42-0,66	0,47
US Conv (Harm) Diam Max	0,48	0,36-0,60	0,88
US Conv (Harm) Volume	0,53	0,41-0,65	0,60
Vol3D	0,53	0,40-0,65	0,64
VFI Massa	0,61	0,49-0,72	0,08
VFI Shell (5mm)	0,54	0,41-0,67	0,48
VFI 1cm ³	0,46	0,32-0,61	0,64
vPI (STIC)	0,50	0,33-0,67	0,96
PI	0,59	0,44-0,74	0,21
PS	0,59	0,44-0,73	0,20
RI	0,53	0,39-0,67	0,61

US Conv Diam Max = Diâmetro máximo utilizando US convencional; US Conv Volume = Volume calculado com US convencional; US Conv (Harm) Diam Max = Diâmetro máximo utilizando US com harmônica; US Conv (Harm) Volume = Volume calculado com US utilizando harmônica; Vol3D = Volume 3D calculado; VFI Massa = Índice Velocidade-Fluxo da massa; VFI Shell (5mm) = Índice Velocidade-Fluxo da parte mais externa da massa (5mm); VFI 1cm³ = Índice Velocidade-Fluxo de 1cm³ mais vascularizada da massa; ; vPI (STIC) = Índices de impedância volumétricos derivados de correlação de imagem espaço-temporal; PI = Índice de Pulsatilidade; PS = Velocidade Máxima; RI = Índice de Resistência; AUROC = Área sob a curva ROC; 95% IC = Intervalo de confiança (95%), p=teste p (Mann-Whitney)

Tabela 19: Área sob a curva ROC (AUROC) das variáveis Diâmetro Máximo com e sem Harmônica, Volume 3D, VFI da Massa, VFI Shell (5mm), VFI 1cm³ mais vascularizada, vPI baseado no VFI da massa, Índice de Pulsatilidade (PI), Velocidade Máxima (PS), Índice de Resistência (RI) para o observador 2.

	AUROC	IC 95%	p
US Conv Diam Max	0,57	0,41-0,72	0,40
US Conv Volume	0,58	0,43-0,74	0,30
US Conv (Harm) Diam Max	0,49	0,33-0,64	0,92
US Conv (Harm) Volume	0,57	0,41-0,73	0,38
Vol3D	0,56	0,40-0,72	0,52
VFI Massa	0,70	0,55-0,85	0,007
VFI Shell (5mm)	0,71	0,57-0,85	0,008
VFI 1cm ³	0,72	0,56-0,88	0,002
vPI (STIC)	0,67	0,45-0,89	0,04
PI	0,48	0,20-0,76	0,96
PS	0,72	0,55-0,88	0,02
RI	0,57	0,38-0,75	0,47

US Conv Diam Max = Diâmetro máximo utilizando US convencional; US Conv Volume = Volume calculado com US convencional; US Conv (Harm) Diam Max = Diâmetro máximo utilizando US com harmônica; US Conv (Harm) Volume = Volume calculado com US utilizando harmônica; Vol3D = Volume 3D calculado; VFI Massa = Índice Velocidade-Fluxo da massa; VFI Shell (5mm) = Índice Velocidade-Fluxo da parte mais externa da massa (5mm); VFI 1cm³ = Índice Velocidade-Fluxo de 1cm³ mais vascularizada da massa; ; vPI (STIC) = Índices de impedância volumétricos derivados de correlação de imagem espaço-temporal; PI = Índice de Pulsatilidade; PS = Velocidade Máxima; RI = Índice de Resistência; AUROC = Área sob a curva ROC; 95% IC = Intervalo de confiança (95%), p=teste p (Mann-Whitney)

Para a avaliação da reprodutibilidade, foi determinado o coeficiente de correlação de concordância em 54 pacientes que o observador 1 e 2 realizaram e avaliaram o exame. A precisão das estimativas foi avaliada pelo seu respectivo intervalo de confiança de 95%. Apenas os parâmetros Diâmetro Máximo e cálculo do volume utilizando ultrassonografia 2D Convencional obtiveram CCC > 0,7. Os resultados são expressos na tabela seguinte:

Tabela 20: Coeficiente de Correlação de Concordância (CCC) considerando as variáveis e casos realizados e analisados pelos observadores 1 e 2.

	N	CCC	IC 95%
US Conv Diam Max	54	0,81	0,70-0,89
US Conv Volume	54	0,93	0,88-0,95
US Conv (Harm) Diam Max	54	0,91	0,85-0,95
US Conv (Harm) Volume	54	0,96	0,94-0,98
Vol3D	54	0,82	0,71-0,93
VFIMassa	54	0,39	0,14-0,60
VFIShell (5mm)	54	0,26	0,002-0,49
VF1cm ³	41	0,25	0,05-0,51
vPI (STIC)	25	0,00	0,00-0,00
PS	38	0,67	0,46-0,81
PI	20	0,24	0,04-0,39
RI	38	0,007	0,26-0,27

US Conv Diam Max = Diâmetro máximo utilizando US convencional; US Conv Volume = Volume calculado com US convencional; US Conv (Harm) Diam Max = Diâmetro máximo utilizando US com harmônica; US Conv (Harm) Volume = Volume calculado com US utilizando harmônica; Vol3D = Volume 3D calculado; VFIMassa= Índice Velocidade-Fluxo da massa; VFIShell (5mm) = Índice Velocidade-Fluxo da parte mais externa da massa (5mm); VF1cm³= Índice Velocidade-Fluxo de 1cm³ mais vascularizada da massa; ; vPI (STIC) = Índices de impedância volumétricos derivados de correlação de imagem espaço-temporal; PI = Índice de Pulsatilidade; PS = Velocidade Máxima; RI = Índice de Resistência; AUROC = Área sob a curva ROC; 95% IC = Intervalo de confiança (95%), p=teste p (Mann-Whitney); N= Número de participantes; CCC = Coeficiente de correlação de concordância; IC 95% = Intervalo de Confiança (95%).

Na comparação entre os 2 observadores, houve a detecção de vaso no interior da massa em 41 casos para o observador 1 e 38 casos para o observador 2. A concordância foi de 41/54 casos (75,93 %) com Índice de Kappa =0,67 e IC de 95% = 0,44-0,89. A sensibilidade do método foi de 88,8% e Especificidade de 30,56%.

Na avaliação da classificação de BI RADS as 54 pacientes em que ambos os observadores realizaram os exames foram categorizadas em risco baixo (BI RADS 2, 3, 4 A), intermediário (BI RADS 4B) e alto (BI RADS 4C e 5). Das 35 pacientes (64,81%) categorizadas como baixo risco pelo observador 1, 5/35 (9,26%) foram categorizadas como intermediário pelo observador 2. Das 6 pacientes (11,11%) com risco intermediário pelo observador 1, houve concordância da classificação em 4/6 (66,66%) pelo observador 2. Das 13 pacientes categorizadas como alto risco pelo observador 1 (24,7%), apenas 1 (1,85%) foi categorizada como intermediário pelo observador 2 com Índice de Kappa =0,701 e IC de 95% = 0,51-0,89.

Discussão

5 DISCUSSÃO

5.1 Síntese dos principais resultados

As variáveis da população (idade, peso, estatura, medições em uso e antecedentes familiares) foram alocadas aleatoriamente para o estudo não mostraram diferenças em relação a uma população normal.

Foram realizadas uma análise primária de precisão diagnóstica das variáveis demográficas e ultrassonográficas considerando casos do observador 1 e uma análise secundária considerando os parâmetros ultrassonográficos em que o observador 2 analisou casos realizados pelo observador 1.

Na análise de precisão diagnóstica apenas a idade se mostrou diferente nos grupos, sendo significativa a maior média em pacientes com massa maligna. Esse achado foi concordante com a literatura médica ^{34, 35}. Os parâmetros como peso, altura não foram estatisticamente significantes. Diversos estudos correlacionam IMC elevado com câncer de mama ^{36, 37}, o que não se mostrou verdadeiro nesse estudo. Não há estudos na literatura sobre correlacionando estatura com índices de malignidade.

Parâmetros de ultrassonografia 2D foram avaliados no presente estudo e não foram úteis para a diferenciação de massas benignas e malignas. A crítica mais frequentemente feita à US é de ser dependente do operador, sendo a sua reprodutibilidade objeto de alguns estudos. Em geral a reprodutibilidade inter-observador da classificação BI-RADS pela US é considerada apenas moderada ⁹, enquanto que uma melhor reprodutibilidade é encontrada para a classificação da forma, contornos e localização das lesões descritas ³⁸. A detecção dos tumores pela US também é dependente do tamanho da lesão: para lesões menores que 5mm foi de 41,7%; para lesões entre 5 e 11 mm foi de 61%; e para lesões maiores que 11 mm foi de 97% ³⁸.

Os parâmetros velocidade máxima (PS), IR e PI por ultrassonografia Doppler espectral de vasos dentro dos nódulos também foram avaliados. No presente estudo apenas a variável PS para o observador 2 mostrou-se diferente entre massas benignas e malignas ($p=0,02$; AUROC=0,72). Apesar de alguns estudos mostrarem benefícios desses parâmetros na diferenciação de massas benignas e malignas ¹⁶⁻¹⁸, um grande número de estudos renderam resultados não significativos ¹⁹⁻²¹. Alguns

critérios usados na caracterização dos nódulos ao *power* Doppler são o número, distribuição e morfologia dos vasos tumorais, além do cálculo do índice de resistência (IR). Entretanto a contribuição do *Power* Doppler à US convencional é pequena, sendo importante nos casos de elevado IR, situação de risco elevado de malignidade ²¹.

O Doppler colorido e *power* Doppler são úteis principalmente para lesões intraductais, permitindo muitas vezes a diferenciação entre um papiloma altamente vascularizado e detritos intraductais. A ausência de sinal de fluxo Doppler em uma lesão intra-cística permite o manejo conservador da lesão, enquanto que a presença de vascularização indica a necessidade de excisão ou biópsia, mesmo na presença de citologia negativa ³⁹. Da mesma forma auxilia na diferenciação entre cistos espessos e carcinoma medular, muitas vezes altamente vascular.

Para a ultrassonografia 3D, as análises foram feitas tanto pelo observador 1 (99 pacientes) quanto pelo observador 2 (98 pacientes). As variáveis VFI, VFI da área externa de 5mm, e VFI da área de 1cm³ mais vascularizada não mostraram diferenças entre massas malignas e benignas para o observador 1. No entanto VFI, VFI da área externa de 5mm, e VFI da área de 1cm³ mais vascularizada mostraram-se diferentes significativamente entre as massas benignas e malignas para o observador 2. Apenas o volume 3D para ambos os observadores não se mostrou útil para a diferenciação das massas. Revisão sistemática mostrou que os índices PD-3D parecem melhorar ligeiramente a precisão diagnóstica em distinguir nódulos benignos e malignos de mama em mulheres que requerem biópsia mamária ²⁵. Na análise considerando apenas pacientes em que o observador 2 também realizou o exame, os achados foram semelhantes, com as variáveis VFI, VFI da área externa de 5mm, e VFI da área de 1cm³ apresentando diferença estatística entre massas benignas e malignas ($p=0,01$; AUROC > 0,7).

O vPI baseado no VFI da amostra de 1cm³ do interior do nódulo que foi subjetivamente considerada como sendo a mais vascularizada não foi diferente entre massas malignas e benignas para o observador 1, porém foi para o observador 2 ($p=0,04$; AUROC = 0,67). Esses índices de impedância volumétricos derivados de correlação de imagem espaço-temporal (STIC) podem ser úteis na prática clínica ²⁸. Na análise considerando apenas exames realizados e analisados pelo observador 2 o resultado mostrou-se não significativo ($p=0,14$; AUROC=0,67).

Para reprodutibilidade foi feita uma análise considerando os 54 casos em que os exames foram realizados e analisados pelo observador 1 e 2. Apenas as variáveis: diâmetro máximo com ou sem harmônica, volume da massa com ou sem harmônica e volume utilizando ultrassonografia 3D mostraram CCC acima de 0,7. Não existem até o momento na literatura médica dados sobre a reprodutibilidade e/ou validade dos índices de pulsatilidade volumétricos para a diferenciação de massas mamárias benignas e malignas.

5.2 Limitações do estudo

Uma das principais limitações deste estudo está relacionado à problemas durante a execução.

A avaliação dos índices de resistência e pulsatilidade no interior das massas também não foi possível em todos os participantes: em 75 participantes os vasos serem visualizados dentro da massa, apenas em 69 casos foi possível aferição dos índices Doppler.

Houve perda dos blocos 3D durante o armazenamento de 3 pacientes e uma proporção considerável dos exames foi realizado apenas pelo observador 1, limitando a avaliação da reprodutibilidade. O vPI baseado no VFI da amostra de 1cm³ do interior do nódulo (STIC), que foi subjetivamente considerada como sendo a mais vascularizada foi obtido em apenas 53 casos para o observador 2 e 51 casos para o observador 1 devido ao fato da avaliação só ser possível quando o software identificava automaticamente a frequência cardíaca pela pulsatilidade observada no modo Power Doppler, o que não ocorreu em 2 tentativas nas outras pacientes.

Talvez o estudo obtivesse resultados mais precisos caso fossem obtidos dados de examinadores com experiências distintas em ultrassonografia 3D. O que sugeriu isso foi que: diversos parâmetros ultrassonográficos do observador 2 (VFI, VFI da área externa de 5mm, e VFI da área de 1cm³ mais vascularizada) foram validos para diferenciar massas benignas e malignas, mas não foram para o observador 1. Apesar da reprodutibilidade observada ter sido baixa, o resultado poderia ter sido diferente caso fosse realizado por observadores mais experientes.

Seria importante desenvolver esses pensamentos até nas implicações para pesquisas futuras

5.3 Implicações deste estudo para prática clínica

Evidências atuais não sustentam que índices Doppler 3D possam ser utilizados na prática clínica, especialmente na diferenciação de massas benignas e malignas. Os resultados da presente pesquisa parecem depender da habilidade do operador em analisar as imagens.

Neste estudo a reprodutibilidade foi satisfatória para variáveis relacionadas a tamanho e volume. Índices Doppler 2D (PI) e Índices Doppler 3D (VFI, VFI-Shell 5mm, VFI amostra 1cm³) podem ser úteis na diferenciação das massas, porém os resultados parecem depender da habilidade do operador em analisar as imagens. O método não apresenta reprodutibilidade satisfatória e resultados podem ser diferentes dependendo de quem faz a análise.

5.4 Implicações deste estudo para pesquisa

Antes de considerar o método para a prática clínica, seria necessário identificar o treinamento mínimo ideal e avaliar estratégias para melhorar a reprodutibilidade como a padronização de parâmetros da máquina e do método.

Seria importante que futuras pesquisas fossem adequadamente desenhadas, visando minimizar o risco de viés, avaliando um maior número de pacientes. Seria também importante utilizar observadores com diferentes níveis de experiência, para saber qual a experiência mínima necessária para calcular os parâmetros, o que permitiria conclusões mais precisas em relação ao seu real benefício na diferenciação de massas benignas e malignas. Uma outra estratégia para reduzir a variabilidade poderia ser a repetição do mesmo exame ou análise por um mesmo examinador, obtendo-se um valor médio.

A análise de parâmetros de ultrassonografia 3D por um terceiro examinador de forma cega e com mascaramento poderia ser útil para verificar a influência da experiência do examinador na precisão diagnóstica de parâmetros ultrassonográficos. Um aumento no número de casos maior poderia também influenciar nos parâmetros e na reprodutibilidade.

Conclusões

6 CONCLUSÕES

Nos parâmetros de ultrassonografia Doppler 3D, os índices Doppler 3D (VFI, VFI-Shell 5mm, VFI amostra 1cm³) foram úteis na diferenciação das massas para o observador 2. O vPI (STIC) baseado no VFI da amostra de 1cm³ considerada subjetivamente como sendo a mais vascularizada do tumor não se mostrou útil na distinção de tumores mamários benignos e malignos.

Na análise de precisão diagnóstica utilizando US-2D e Doppler espectral, apenas o BI-RADS para ambos os observadores e a velocidade máxima (PS) para o observador 2 foi útil na diferenciação das massas benignas e malignas.

Exceto pela avaliação das dimensões das massas, os outros parâmetros de ultrassonografia apresentaram baixa reprodutibilidade inter-observador.

Desta forma, apesar da ultrassonografia Doppler 3D poder ser útil na distinção de massas mamárias malignas e benignas, ainda é importante avaliar aprimoramentos técnicos e/ou definir um treinamento mínimo necessário de forma a obter um nível aceitável de reprodutibilidade para o método.

Referências Bibliográficas

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; **61**: 69-90.
2. Jemal A, Center MM, DeSantis C, Ward EM. Global patterns of cancer incidence and mortality rates and trends. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; **19**: 1893-1907.
3. Elmore JG, Barton MB, Moceri VM, Polk S, Arena PJ, Fletcher SW. Ten-year risk of false positive screening mammograms and clinical breast examinations. *N Engl J Med* 1998; **338**: 1089-1096.
4. Morrow M. The evaluation of common breast problems. *Am Fam Physician* 2000; **61**: 2371-2378, 2385.
5. Rimsten A, Stenkvist B, Johanson H, Lindgren A. The diagnostic accuracy of palpation and fine-needle biopsy and an evaluation of their combined use in the diagnosis of breast lesions: report on a prospective study in 1244 women with symptoms. *Ann Surg* 1975; **182**: 1-8.
6. Schroll JB, Bero L, Gøtzsche PC. Searching for unpublished data for Cochrane reviews: cross sectional study. *BMJ* 2013; **346**: f2231.
7. Hlawatsch A, Teifke A, Schmidt M, Thelen M. Preoperative assessment of breast cancer: sonography versus MR imaging. *AJR Am J Roentgenol* 2002; **179**: 1493-1501.
8. Kolb TM, Lichy J, Newhouse JH. Comparison of the performance of screening mammography, physical examination, and breast US and evaluation of factors that influence them: an analysis of 27,825 patient evaluations. *Radiology* 2002; **225**: 165-175.
9. Park CS, Lee JH, Yim HW, Kang BJ, Kim HS, Jung JI, Jung NY, Kim SH. Observer agreement using the ACR Breast Imaging Reporting and Data System (BI-RADS)-ultrasound, First Edition (2003). *Korean J Radiol* 2007; **8**: 397-402.
10. Szopinski KT, Pajk AM, Wysocki M, Amy D, Szopinska M, Jakubowski W. Tissue harmonic imaging: utility in breast sonography. *J Ultrasound Med* 2003; **22**: 479-487; quiz 488- 479.

11. Cha JH, Moon WK, Cho N, Kim SM, Park SH, Han BK, Choe YH, Park JM, Im JG. Characterization of benign and malignant solid breast masses: comparison of conventional US and tissue harmonic imaging. *Radiology* 2007; **242**: 63-69.
12. Zhi H, Xiao XY, Yang HY, Ou B, Wen YL, Luo BM. Ultrasonic elastography in breast cancer diagnosis: strain ratio vs 5-point scale. *Acad Radiol* 2010; **17**: 1227-1233.
13. Wojcinski S, Farrokh A, Weber S, Thomas A, Fischer T, Slowinski T, Schmidt W, Degenhardt F. Multicenter study of ultrasound real-time tissue elastography in 779 cases for the assessment of breast lesions: improved diagnostic performance by combining the BI-RADS®-US classification system with sonoelastography. *Ultraschall Med* 2010; **31**: 484-491.
14. Regner DM, Hesley GK, Hangiandreou NJ, Morton MJ, Nordland MR, Meixner DD, Hall TJ, Farrell MA, Mandrekar JN, Harmsen WS, Charboneau JW. Breast lesions: evaluation with US strain imaging--clinical experience of multiple observers. *Radiology* 2006; **238**: 425-437.
15. Burnside ES, Hall TJ, Sommer AM, Hesley GK, Sisney GA, Svensson WE, Fine JP, Jiang J, Hangiandreou NJ. Differentiating benign from malignant solid breast masses with US strain imaging. *Radiology* 2007; **245**: 401-410.
16. Cosgrove DO, Kedar RP, Bamber JC, al-Murrani B, Davey JB, Fisher C, McKinna JA, Svensson WE, Tohno E, Vagios E. Breast diseases: color Doppler US in differential diagnosis. *Radiology* 1993; **189**: 99-104.
17. Raza S, Baum JK. Solid breast lesions: evaluation with power Doppler US. *Radiology* 1997; **203**: 164-168.
18. Sehgal CM, Arger PH, Rowling SE, Conant EF, Reynolds C, Patton JA. Quantitative vascularity of breast masses by Doppler imaging: regional variations and diagnostic implications. *J Ultrasound Med* 2000; **19**: 427-440; quiz 441-422.
19. Buadu LD, Murakami J, Murayama S, Hashiguchi N, Toyoshima S, Sakai S, Yabuuchi H, Masuda K, Kuroki S, Ohno S. Colour Doppler sonography of breast masses: a multiparameter analysis. *Clin Radiol* 1997; **52**: 917-923.
20. Ozdemir A, Ozdemir H, Maral I, Konuş O, Yücel S, Işık S. Differential diagnosis of solid breast lesions: contribution of Doppler studies to mammography and gray scale imaging. *J Ultrasound Med* 2001; **20**: 1091-1101; quiz 1102.

21. Gokalp G, Topal U, Kizilkaya E. Power Doppler sonography: anything to add to BI-RADS US in solid breast masses? *Eur J Radiol* 2009; **70**: 77-85.
22. Hsiao YH, Kuo SJ, Liang WM, Huang YL, Chen DR. Intra-tumor flow index can predict the malignant potential of breast tumor: dependent on age and volume. *Ultrasound Med Biol* 2008; **34**: 88-95.
23. Carson PL, Moskalik AP, Govil A, Roubidoux MA, Fowlkes JB, Normolle D, Adler DD, Rubin JM, Helvie M. The 3D and 2D color flow display of breast masses. *Ultrasound Med Biol* 1997; **23**: 837-849.
24. Huang YL, Kuo SJ, Hsu CC, Tseng HS, Hsiao YH, Chen DR. Computer-aided diagnosis for breast tumors by using vascularization of 3-D power Doppler ultrasound. *Ultrasound Med Biol* 2009; **35**: 1607-1614.
25. Martinez GL, Nastri CO, Miyague AH, Martins WP. Three-dimensional Doppler Indices for Breast Masses: Systematic Review of Diagnostic Test Accuracy. *J Med Ultrasound* 2013; **21**: 126-131.
26. Pairleitner H, Steiner H, Hasenoehrl G, Staudach A. Three-dimensional power Doppler sonography: imaging and quantifying blood flow and vascularization. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1999; **14**: 139-143.
27. Martins WP. Three-dimensional power Doppler: validity and reliability. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2010; **36**: 530-533.
28. Martins WP, Welsh AW, Falkensammer P, Raine-Fenning NJ. Re: spatio-temporal imaging correlation (STIC): technical notes about STIC triggering and choosing between power Doppler or high-definition color flow. *Ultrasound Med Biol* 2013; **39**: 549-550.
29. Martins WP, Raine-Fenning NJ. Analysis and acquisition reproducibility of 3D power Doppler. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2010; **36**: 392-393; author reply 393-394.
30. Martins WP, Lima JC, Welsh AW, Araujo Júnior E, Araujo E, Miyague AH, Filho FM, Raine-Fenning NJ. Three-dimensional Doppler evaluation of single spherical samples from the placenta: intra- and interobserver reliability. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2012; **40**: 200-206.
31. Martins WP, Nastri CO. Interpreting reproducibility results for ultrasound measurements. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2014; **43**: 479-480.

32. Miyague AH, Raine-Fenning NJ, Pavan TZ, Polanski LT, Baumgarten MN, Nastri CO, Martins WP. Influence of gain adjustment on 3-dimensional power Doppler indices and on spatiotemporal image correlation volumetric pulsatility indices using a flow phantom. *J Ultrasound Med* 2013; **32**: 1831-1836.
33. Evans A, Trimboli RM, Athanasiou A, Balleyguier C, Baltzer PA, Bick U, Camps Herrero J, Clauser P, Colin C, Cornford E, Fallenberg EM, Fuchsjaeger MH, Gilbert FJ, Helbich TH, Kinkel K, Heywang-Kobrunner SH, Kuhl CK, Mann RM, Martincich L, Panizza P, Pediconi F, Pijnappel RM, Pinker K, Zackrisson S, Forrai G, Sardanelli F, European Society of Breast Imaging wlrED-TEBCC. Breast ultrasound: recommendations for information to women and referring physicians by the European Society of Breast Imaging. *Insights Imaging* 2018; **9**: 449-461.
34. Moore DH, Moore CT. Breast carcinoma etiological factors. *Adv Cancer Res* 1983; **40**: 189-253.
35. Lees AW, Jenkins HJ, May CL, Cherian G, Lam EW, Hanson J. Risk factors and 10-year breast cancer survival in northern Alberta. *Breast Cancer Res Treat* 1989; **13**: 143-151.
36. Engin A. Obesity-associated Breast Cancer: Analysis of risk factors. *Adv Exp Med Biol* 2017; **960**: 571-606.
37. Simone V, D'Avenia M, Argentiero A, Felici C, Rizzo FM, De Pergola G, Silvestris F. Obesity and Breast Cancer: Molecular Interconnections and Potential Clinical Applications. *Oncologist* 2016; **21**: 404-417.
38. Berg WA, Blume JD, Cormack JB, Mendelson EB. Operator dependence of physician-performed whole-breast US: lesion detection and characterization. *Radiology* 2006; **241**: 355-365.
39. Catalano O, Raso MM, D'Aiuto M, Illiano LA, Saturnino PP, Siani A. Additional role of colour Doppler ultrasound imaging in intracystic breast tumours. *Radiol Med* 2009; **114**: 253-266.