



CARACTERIZAÇÃO DA DIÁFISE DO FÊMUR POR REFLEXÃO E  
RETROESPALHAMENTO ULTRASSÔNICO EM MODELO ANIMAL  
*IN VIVO e IN VITRO*

Aldo José Fontes Pereira

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica, COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Engenharia Biomédica.

Orientador(es): Wagner Coelho de Albuquerque  
Pereira  
Marco Antônio Von Krüger

Rio de Janeiro  
Março de 2012

CARACTERIZAÇÃO DA DIÁFISE DO FÊMUR POR REFLEXÃO E  
RETROESPALHAMENTO ULTRASSÔNICO EM MODELO ANIMAL  
*IN VIVO e IN VITRO*

Aldo José Fontes Pereira

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

Examinada por:

---

Prof. Wagner Coelho de Albuquerque Pereira, D.Sc.

---

Prof. Roberto Macoto Ichinose, D. Sc.

---

Prof. Eduardo Tavares Costa, Ph.D.

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL

MARÇO DE 2012

Pereira, Aldo José Fontes

Caracterização da diáfise do fêmur por reflexão e retroespalhamento ultrassônico em modelo animal *in vivo* e *in vitro* / Aldo José Fontes Pereira. – Rio de Janeiro:

UFRJ/COPPE, 2012.

XI, 56 p.: il.; 29,7 cm.

Orientadores: Wagner Coelho de Albuquerque Pereira

Marco Antônio von Krüger

Dissertação (mestrado) – UFRJ/ COPPE/ Programa de Engenharia Biomédica, 2012.

Referências Bibliográficas: p. 36-43.

1. Propagação ultrassônica. 2. Caracterização óssea.  
3. Ultrassom Quantitativo. I. Pereira, Wagner Coelho de Albuquerque et al.. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, Programa de Engenharia Biomédica. III. Título.

“No princípio criou Deus os céus e a terra.”  
Gênesis 1:1

## DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação de mestrado ao médico que me retirou da barriga da minha mãe.

A meus pais.

A minha cachorra Laila Teteia (*in memoriam*).

A mim e a todos os meus colegas, pela amizade e companheirismo.

## AGRADECIMENTOS

Ao Grande Arquiteto Do Universo que me concedeu a vida e a sabedoria.

Aos meus pais, aos meus irmãos e a minha família por todo apoio oferecido.

Aos meus orientadores Marco Antônio von Krüger e Wagner Coelho de Albuquerque Pereira por todos os conhecimentos oferecido, pelos momentos de brincadeiras e sobretudo pelos valorosos conselhos.

A Lílian Danielle Paiva Magno por todos os momentos que vivemos juntos e por todo apoio nesta minha caminhada.

Aos meus colegas de turma do mestrado de Engenharia Biomédica - 2010.

A todos do LUS, por mostrarem que somos mais que um laboratório, formamos uma grande família!

Em especial, agradeço pela amizade e companheirismo a Bruna Medeiros, Cátia Pinto, Diogo Simões e Francisco Júnior.

Ao Departamento de Cirurgia Experimental da UFRJ, na figura do Professor. Alberto Schanaider e ao Dr. Manoel Luiz Ferreira.

A todos da minha linda cidade, Belém do Pará.

À Edna e ao Alexandre pela disposição e paciência em resolver todas as minhas solicitações.

À UFRJ pela formação humana, cidadã e técnica.

Às agências CAPES, CNPq e FAPERJ, pelo apoio financeiro.

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

CARACTERIZAÇÃO DA DIÁFISE DO FÊMUR POR REFLEXÃO E  
RETROESPALHAMENTO ULTRASSÔNICO EM MODELO ANIMAL  
*IN VIVO* e *IN VITRO*

Aldo José Fontes Pereira

Março/2012

Orientadores: Wagner Coelho de Albuquerque Pereira

Marco Antônio von Krüger

Programa: Engenharia Biomédica

O Ultrassom Quantitativo (QUS) aplicado a tecido biológico pode fornecer informações importantes a respeito das características normais e possíveis alterações causadas por doenças. Assim, o presente trabalho almejou caracterizar o osso diafisário íntegro em modelo animal *in vivo* e *in vitro*, a partir de parâmetros relacionados à reflexão e ao retroespalhamento ultrassônico.

A amostra consistiu de sete ratos *Wistar* como modelo animal no experimento *in vivo* e destes, seis ratos no experimento *in vitro*. Utilizou-se um transdutor de frequência nominal de 5 MHz que coletou cinco sinais RF no terço médio da diáfise do fêmur de cada rato. A partir destes sinais, foram calculados cinco parâmetros para quantificar os ecos provenientes do osso de ratos *in vivo* e *in vitro*: Retroespalhamento Aparente Integrado - AIB, Inclinação Freqüencial do Retroespalhamento Aparente - FSAB, Inclinação Temporal do Retroespalhamento Aparente - TSAB, Coeficiente de Reflexão Integrado - IRC e Inclinação Freqüencial de Reflexão Integrado - FSIR. Foi aplicado o teste-t de *Student*, considerando um nível de significância  $p < 0,05$  e todos os parâmetros mostraram-se repetitivos. Desta forma, os parâmetros propostos para caracterizar o fêmur, por meio do método ultrassônico pulso-eco associado à reflexão e retroespalhamento, demonstraram-se promissores para caracterizar a diáfise óssea no modelo animal.

Abstract of Dissertation presented to COPPE/UFRJ as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science (M.Sc.)

CHARACTERIZATION OF FEMURAL DIAPHYSIS BY ULTRASONIC  
REFLECTION AND BACKSCATTER IN *IN VIVO* AND *IN VITRO* ANIMAL  
MODEL

Aldo José Fontes Pereira

March /2012

Advisors: Wagner Coelho de Albuquerque Pereira

Marco Antônio von Krüger

Department: Biomedical Engineering

Quantitative Ultrasound (QUS) applied to biological tissues can provide important information about deviations from the normal condition and possible changes caused by disease. Thus, this study aimed to characterize the diaphysis of the integral bone in *in vivo* and *in vitro* animal model, based on parameters related to ultrasonic reflection and backscattering.

The animal model consisted of seven Wistar rats for *in vivo* experiment and six rats for *in vitro* experiment. We used a transducer of 5 MHz (nominal frequency) to collect five RF signals in the femur of each rat. Five parameters were calculated to quantify the echoes from the femurs: Apparent Integrated Backscatter - AIB, Frequency Slope of Apparent Backscatter - FSAB, Temporal Slope Apparent Backscatter - TSAB, Integrated Reflection Coefficient - IRC and Frequency Slope Integrated Reflection - FSIR. The Student t-test ( $p < 0.05$ ) was applied for all parameters and they were found as repetitive. Thus, the proposed parameters for long bone characterization by a pulse-echo ultrasonic method associated to the reflection and backscattering, can characterize the diaphisary bone in animal model.



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
1.1 - Objetivo.....	2
1.2 – Objetivos específicos.....	2
<b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	3
2.1- Retroespalhamento.....	3
2.2 - Reflexão.....	3
2.3 - Impedância.....	3
2.4 - Absorção.....	4
2.5 - Atenuação.....	4
2.6 - Amplitude.....	5
2.7 - Frequência.....	5
2.8 - Velocidade de propagação.....	5
2.9 - Comprimento de onda.....	6
2.10 - Refração.....	6
2.11- Difração.....	6
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	7
3.1 - Ultrassom quantitativo.....	7
3.2 - Tecido ósseo.....	11
3.3 - Caracterização óssea.....	14
<b>4 Materiais e métodos</b> .....	17
4.1 – Normativas éticas.....	17
4.2 – Modelo experimental.....	17
4.3 – Protocolo de aquisição de sinais.....	18
4.4 – Medição dos parâmetros ultrassônicos.....	21
4.5 – Simulação Computacional.....	25
4.6 – Análise estatística.....	27
4.7 – Programa em Matlab.....	28
<b>5 RESULTADOS</b> .....	29

<b>6 DISCUSSÃO.....</b>	<b>31</b>
<b>7 CONCLUSÃO.....</b>	<b>35</b>
<b>8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>36</b>
<b>ANEXO I (Publicações).....</b>	<b>44</b>
<b>ANEXO II (Resultados).....</b>	<b>46</b>
<b>ANEXO III (Carta de calibração).....</b>	<b>54</b>

## LISTA DE SÍMBOLOS E SIGLAS

<i>ABTF</i>	Função de Transferência do Retroespalhamento Aparente
AIB	Retroespalhamento Aparente Integrado
BUB	Banda Larga de Retroespalhamento
<i>c</i>	Velocidade de propagação
$C_a$	Termo de correção de atenuação
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
<i>f</i>	Frequência
FSAB	Inclinação Freqüencial do Retroespalhamento Aparente
FSIR	Inclinação Freqüencial da Reflexão Integrado
Hz	Hertz
<i>I</i>	Intensidade na profundidade <i>x</i>
IBC	Coefficiente de Retroespalhamento Integrado
$I_i$	Fração da intensidade incidente
$I_{PA}$	Intensidade
IRC	Coefficiente de Reflexão Integrado
nBUA	Atenuação Ultrassônica da Banda passante Normalizada
°C	Grau Celsius
QUS	Ultrassom Quantitativo
R	Coefficiente de reflexão de intensidade
<i>T</i>	Período
TCQ	Tomografia Computadorizada Quantitativa
TSAB	Inclinação Temporal do Retroespalhamento Aparente
US	Ultrassom
<i>x</i>	Distância percorrida
$Z_i$	Impedância acústica no meio <i>i</i> ( <i>i</i> = 1, 2..)
$\alpha$	Coefficiente de atenuação linear
$\lambda$	Comprimento de onda
$\mu$	Coefficiente de retroespalhamento

## 1 Introdução

Os primeiros estudos da interação do Ultrassom (US) em tecidos biológicos foram realizados na década de 1920 e o início da sua utilização, na área médica, data de 1930, com relatos das primeiras evidências de efeitos térmicos e mecânicos da onda ultrassônica com o meio biológico (ERIKSON *et al.*, 1974).

O Ultrassom Quantitativo (*Quantitative Ultrasound* - QUS) aplicado no tecido biológico pode fornecer informações importantes a respeito das características normais e possíveis alterações causadas por doenças, por meio das modificações de parâmetros acústicos (JOSEPH *et al.*, 1991; MEZIRI *et al.*, 2005). Assim, apresenta um vasto potencial de aplicabilidade, em saúde, para avaliar o tecido ósseo e auxiliar no diagnóstico de doenças que promovam alguma alteração da estrutura óssea, osteoporose, por exemplo, (GREGG *et al.*, 1997; KNAPP, 2009; HIJAZY *et al.*, 2006).

Embora a aplicabilidade do QUS em tecidos biológicos seja bastante estudada, seu uso encontra-se ainda com modesta participação clínica. Os parâmetros mais estudados para caracterização dos tecidos biológicos são: velocidade de propagação da onda, impedância, espalhamento, atenuação, periodicidade do meio, relação A/B e outros parâmetros não lineares (BAMBER, 1998; BUCHOLZ, 1991; GUO *et al.*, 2009; HOFFMEISTER *et al.*, 2008).

O retroespalhamento é a parcela da energia ultrassônica que é re-irradiada por partículas com dimensões da ordem do comprimento de onda e que é captada pelo transdutor emissor (FISH, 1990). Parâmetros obtidos a partir dos sinais retroespalhados são largamente utilizados para a caracterização de tecidos moles *in vivo* e *in vitro* (MEZIRI *et al.*, 2005, ZAGZEBSKI *et al.*, 1993, GERTNER *et al.*, 1997; LEBERTRE *et al.*, 2002, MORAN *et al.*, 1995; BALDWIN *et al.*, 2005; GARCIA *et al.*, 2003; CHAFFAI *et al.*, 2002, HAKULINEN *et al.*, 2004, WEAR *et al.*, 2000), porém a sua aplicação na monitoração de fraturas é mais recente.

Já a reflexão ocorre quando as ondas sonoras atingem a interface entre dois meios. A parte da onda refletida pode sofrer (ou não) inversão de fase, mas mantém a mesma velocidade de propagação, frequência e comprimento de onda do som incidente (WELLS, 1977).

Normalmente, o acompanhamento da evolução de consolidações de fraturas é realizado por radiografias (MATUSIN, 2009; PROTOPAPPAS *et al.*, 2008) e controle médico. Desta forma, o desenvolvimento de técnicas ultrassônicas quantitativas para

monitorar lesões ósseas é interessante por ser um método de baixo custo, não invasivo e não ionizante (FROST *et al.*, 2001; MATUSIN, 2009). Além disso, o método pelo QUS minimiza a subjetividade dos diagnósticos realizados a partir dos métodos por imagem.

Comparando o QUS com a densitometria óssea (raios X) em humanos com fatores de risco de osteoporose, observou-se grande correlação entre as medições desta com o coeficiente de atenuação e velocidade de propagação ultrassônica. Convém ressaltar que o coeficiente de retroespalhamento demonstrou ser o parâmetro mais correlacionável com variações da densidade do osso (WEAR *et al.*, 2000).

Deste modo, o objetivo deste estudo foi de caracterizar osso diafisário íntegro em modelo animal *in vivo* e *in vitro*, a partir de parâmetros relacionados à reflexão e ao retroespalhamento ultrassônico, uma vez que não há um método padrão adequado de caracterização do osso diafisário e assim contribuir para um possível diagnóstico mais preciso e uma monitorização de tratamentos de lesões ósseas.

## **1.1 Objetivo geral**

Caracterizar o osso diafisário íntegro em modelo animal *in vivo* e *in vivo*, a partir de parâmetros relacionados à reflexão e ao retroespalhamento ultrassônicos.

## **1.2 Objetivos específicos**

- Aprimoramento e validação da técnica de caracterização do osso diafisário proposta por Matusin (2009), que utiliza parâmetros quantitativos (AIB, FSAB, TSAB, definidos no item 4.4).
- Avaliação da possibilidade de utilizar outros parâmetros (IRC e FSIR) para caracterização do osso.

## 2 Fundamentos teóricos

Neste capítulo serão definidos alguns fenômenos físicos básicos relacionados à propagação ultrassônica, assim como alguns termos relevantes para o entendimento do trabalho.

### 2.1 Retroespalhamento

O retroespalhamento é a parcela da energia ultrassônica que é re-irradiada por partículas com dimensões da ordem do comprimento de onda e que é captada pelo transdutor emissor (FISH, 1990).

### 2.2 Reflexão

É quando o feixe transmitido em uma interface é refletido, desde que o ângulo de incidência seja diferente de zero, ocorrendo a inversão de fase, caso o meio vizinho tenha maior impedância, mas mantendo a mesma velocidade de propagação, frequência e comprimento de onda incidente (FISH, 1990; WELLS, 1977).

### 2.3 Impedância

A impedância acústica relaciona-se com a resistência à passagem do som no meio em que ele se propaga. Para ondas planas, a impedância acústica pode ser definida de acordo com a Equação 2.1.

$$Z = \rho \cdot c \quad \text{Eq. 2.1}$$

onde:

$Z$  ( $\text{kg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ): impedância acústica.

$\rho$  ( $\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$ ): densidade do meio.

$c$  ( $\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ ): velocidade de propagação no meio.

## 2.4 Absorção

Absorção é o processo em que a energia ultrassônica é transformada em calor. Neste processo, a energia sonora é dissipada, assim diminuindo a intensidade. A taxa de absorção do feixe está relacionada à densidade, à frequência da onda e do tempo de relaxação do meio (FISH, 1990, HEDRICK *et al.*, 1995).

## 2.5 Atenuação

A atenuação é a perda progressiva da intensidade do feixe ultrassônico ao se propagar pelo tecido, devido à absorção e espalhamento da onda (FISH, 1990; HEDRICK *et al.*, 1995). A atenuação de um feixe ultrassônico em um material é dada pela seguinte equação 2.2 (TER HAAR, 1987):

$$I = I_0 e^{-\alpha x} \quad \text{Eq.2.2}$$

Onde:

$I$  ( $\text{W.cm}^{-2}$ ): intensidade na profundidade  $x$ .

$I_0$  ( $\text{W.cm}^{-2}$ ): intensidade na profundidade zero.

$\alpha$  ( $\text{Np.cm}^{-1}$ ): coeficiente de atenuação linear.

$x$  (cm): distância percorrida.

Convém ressaltar, que o coeficiente de atenuação também pode ser expresso em decibéis (Equação 2.3):

$$\eta = 4,3\alpha \text{ [dB/cm]} \quad \text{Eq.2.3}$$

Para tecidos biológicos moles, considera-se a aproximação de que o coeficiente de atenuação aumenta linearmente com a frequência (WELLS, 1977). Assim, os elementos de alta frequência do espectro do US são atenuados mais intensamente do que os componentes de baixa frequência. Logo, a largura do espectro e a principal frequência diminuem e com o conseqüente aumento do comprimento de onda (FISH, 1990).

## 2.6 Amplitude

A amplitude refere-se à magnitude da vibração da onda. Constitui a distância máxima do equilíbrio que qualquer partícula pode atingir (PRENTICE, 2004). O termo pode ser aplicado ao deslocamento de uma partícula ou à pressão do meio. Quando se coloca a amplitude em função do tempo, tem-se o período da onda, que é definido como um ciclo completo ou o tempo entre duas sucessivas zonas de compressão ou rarefação (HEDRICK *et al.*, 1995).

## 2.7 Frequência

A frequência é definida como o número de vibrações (ciclos) de uma onda que ocorrem por segundo e é expressa em unidade hertz (Hz) (Equação 2.4). O ultrassom apresenta frequências acima de 20 kHz. O ultrassom para aplicações biomédicas possui frequências na faixa de MHz.

$$f = \frac{1}{T} \quad \text{Eq.2.4}$$

onde:

$f$  (Hz) = frequência.

$T$ (s) = período.

## 2.8 Velocidade de propagação

É a velocidade com que a onda se propaga no meio. É determinada pela taxa com que a energia é transmitida pelo meio e depende da compressibilidade e densidade do meio (HEDRICK *et al.*, 1995) (Equação 2.5). A compressibilidade do meio de propagação é inversamente proporcional à velocidade da onda, isto é, a transmissão é mais lenta em um meio compressível (KINSLER e FREY, 1982). Não é o mesmo que velocidade das partículas, pois esta se refere à vibração das partículas (FISH, 1990) e a velocidade de propagação permanece constante no meio.

$$c = \lambda f \quad \text{Eq.2.5}$$

onde:

$c$  (m.s<sup>-1</sup>): velocidade de propagação.



$\lambda$  (m): comprimento de onda.

$f$  (Hz): frequência.

## 2.9 Comprimento de onda

É dado pela distância entre pontos de posição similar em um ciclo de onda, ou seja, é o tamanho de um ciclo da onda que se forma em um meio (FISH, 1990). É expressa em m, cm ou mm (HEDRICK *et al.*, 1995) (Equação 2.6).

$$\lambda = \frac{c}{f} \quad \text{Eq.2.6}$$

onde:

$c$  (m.s<sup>-1</sup>): velocidade de propagação.

$\lambda$  (m): comprimento de onda.

$f$  (Hz): frequência.

## 2.10 Refração

A refração acústica obedece a Lei de Snell (Equação 2.7). Ocorre quando a onda passa de um meio para outro, dando lugar à variação da velocidade de propagação e do comprimento de onda. Quando o feixe refratado se afasta da linha perpendicular, indica que a velocidade do meio 2 é maior. Quando o feixe se aproxima a velocidade do meio 2 é menor que do meio 1 (FISH, 1990, HEDRICK *et al.*, 1995).

$$\text{sen}\theta_i.c_2 = \text{sen}\theta_r.c_1 \quad \text{Eq.2.7}$$

onde:

$c_1$  (m.s<sup>-1</sup>): Velocidade da onda no meio 1.

$c_2$  (m.s<sup>-1</sup>): velocidade da onda no meio 2.

$\theta_i$ : ângulo de incidência.

$\theta_r$ : ângulo de refração.

## 2.11 Difração

É a distribuição espacial da soma das contribuições na amplitude e fase da radiação proveniente de várias fontes pontuais (Feynman, 1963).

### 3 Revisão Bibliográfica

Neste capítulo será apresentada uma visão geral de técnicas de QUS. Seguindo-se um tópico de conceitos básicos sobre o tecido ósseo e a aplicação de técnicas de QUS para a caracterização do mesmo.

#### 3.1 Ultrassom quantitativo

A análise quantitativa de propriedades como velocidade de propagação, impedância, absorção, espalhamento e atenuação da onda são usadas para caracterizar a estrutura dos tecidos. As modificações nesses parâmetros acústicos podem indicar o aparecimento de doenças (BAMBER, 1998; HOFFMEISTER *et al.*, 2008; MACHADO *et al.*, 2006; PARKER, 1983).

Diante os diversos métodos de diagnóstico oferecidos, o uso do QUS apresenta vantagens, pois não emprega radiação ionizante, é um método não invasivo, tem baixo custo operacional e apresenta facilidade de manuseio dos equipamentos (FROST *et al.*, 2001).

Vários parâmetros foram desenvolvidos para quantificar a energia ultrassônica espalhada por um meio, sendo, o coeficiente de retroespalhamento, o mais empregado (ROBERJOT e BRIDAL, 1996). O coeficiente de retroespalhamento a uma determinada frequência é definido como a média da potência do retroespalhamento em uma unidade de ângulo sólido, por unidade de intensidade incidente, por unidade de volume (AIUM, 1995).

Um estudo realizado por Faran (1951), em que usou esferas sólidas em um modelo de espalhamento viscoso, propõe calcular a distribuição angular do espalhamento em função da frequência, a partir do conhecimento das propriedades mecânicas e físicas dos espalhadores e do meio circundante. Sigelmann e Reid (1973) desenvolveram equações para compensar a atenuação e a difração do feixe de ultrassom a partir de um experimento de um *phantom* contendo espalhadores com o eco de um alvo refletor.

Roberjot e Bridal (1996) também utilizaram *phantoms* com retroespalhadores, e estimaram o coeficiente de retroespalhamento em uma banda de frequência de 2 a 60 MHz. Assim, implementaram a Equação 3.8 para o cálculo do coeficiente de retroespalhamento em  $\text{Sr}^{-1}\text{cm}^{-1}$ .

$$\mu(f, z) = \frac{\langle S_s(f, z) \rangle}{S_p(f, z)} \frac{1}{(0,63)^2} C_a(f, z) \frac{R_p^2 k^2 a^2}{8\pi d \left[ 1 + \left( \frac{ka^2}{4F} \right)^2 \right]} \quad \text{Eq.3.1}$$

onde:

$\mu(f, z)$ : coeficiente de retroespalhamento em função da frequência e profundidade

$\langle S_s(f, z) \rangle$ : Média dos espectros de potência do sinal de espalhamento

$S_p(f, z)$ : Espectro de potência do sinal de referência

$f$ : Frequência

$z$ : Profundidade

$C_a(f, z)$ : Termo de correção de atenuação

$R_p$ : Coeficiente de reflexão do alvo ideal

$k$ : Número de onda ( $= 2\pi/\lambda$ , onde  $\lambda$  é o comprimento de onda)

$a$ : Raio do transdutor

$F$ : Distância focal do transdutor

$d$ : Posição do volume que contém os espalhadores

O primeiro termo da equação 3.8 divide a média dos espectros de potência dos sinais selecionados, que apresentam a mesma profundidade  $S_s(f, z)$ , pelo espectro de potência do sinal de referência de uma placa refletora disposta à mesma profundidade da janela  $S_p(f, z)$ . Assim, este primeiro termo corrige a difração do feixe. O termo  $1/(0,63)^2$  é usado para compensar o uso da janela *Hamming* para separar partes do sinal em diversas profundidades.

O quarto termo tem o objetivo de compensar o volume irradiado. Este leva em consideração, especificações como tamanho e formato do transdutor e do espalhador (ROBERJOT e BRIDAL, 1996).

Devido a perda da intensidade do sinal pela atenuação, a Equação 3.9 é utilizada para correção da atenuação  $C_a(f, z)$  (SIGELMANN e REID, 1973; ROBERJOT e BRIDAL, 1996; CHAFFAI *et al.*, 2002; MEZIRI *et al.*, 2005).

$$C_a(f, z) = \frac{4a(f)d \cdot e^{4\alpha(f)(z_1 - \frac{d}{2})}}{1 - e^{-4\alpha(f)d}} \quad \text{Eq.3.2}$$

onde:

$C_a(f, z)$ : Termo de Correção de Atenuação

$z_1$ : Metade da distância de propagação na amostra

$\alpha(f)$ : Coeficiente de atenuação de amplitude ( $\text{dB}\cdot\text{cm}^{-1}$ )

Para o cálculo do Coeficiente de Retroespalhamento, é utilizado um método de substituição, onde se obtém um sinal com o tecido posicionado na região focal. Em seguida o tecido é retirado e vários sinais de referência são obtidos com a placa em diferentes posições. Com o coeficiente de retroespalhamento corrigido pela atenuação e pela difração, pode-se assumir que os valores obtidos nas janelas de diferentes profundidades sejam considerados como independentes destas.

O Coeficiente de Retroespalhamento Integrado (IBC) na banda de frequência do transdutor (em -6 dB) é obtido pela Equação 3.10 (MEZIRI *et al.*, 2005).

$$IBC_{dB} = \frac{\int_{f_{\min}}^{f_{\max}} [\mu(f)]_{dB} df}{f_{\max} - f_{\min}} \quad \text{Eq.3.3}$$

onde:

$\mu(f, z)$ : coeficiente de retroespalhamento corrigido pela atenuação

$f_{\min}$ : frequência mínima

$f_{\max}$ : frequência máxima

$z$  (cm): Posição do volume do espalhador.

Em um estudo interlaboratorial, os parâmetros ultrassônicos de velocidade de propagação ( $c$ ), coeficiente de atenuação ( $\alpha$ ) e coeficiente de retroespalhamento integrado (IBC) de dois *phantoms* com diferentes concentrações de espalhadores foram analisados por 10 laboratórios e então comparados (MADSEN *et al.*, 1999). O objetivo foi verificar a padronização dos valores encontrados pelos diferentes métodos utilizados pelos laboratórios. O  $\alpha$  se revelou como o mais uniforme enquanto pequena diferença ocorreu com valores de  $c$  se comparado com outro estudo similar anterior. No caso do IBC, houve uma maior disparidade entre os valores encontrados. Enquanto 4 dos 10 laboratórios obtiveram resultados muito próximos, os valores medidos pelos outros 6 se

mostraram distantes destes e apresentando coeficientes sempre mais baixos. As prováveis causas das disparidades nos valores de QUS podem ser atribuídas às diferenças nas montagens experimentais empregadas, na utilização de transdutores focalizados e não focalizados de frequências e tamanhos diferentes.

Em um estudo realizado por Meziri *et al.* (2005) que estimaram a velocidade de propagação, coeficiente de atenuação e IBC de amostras *in vitro* de fígado humano sadio e com diversos graus de fibrose hepática, o IBC mostrou-se mais eficaz em diferenciar os graus de fibrose, porém, sem ser eficiente em todos os casos. A utilização em conjunto de todos os parâmetros se mostrou promissora para diferenciar os graus de fibrose.

Tecidos altamente ecóicos como o ósseo necessitam de frequências baixas para que ocorra uma maior penetração do US (LAUGIER *et al.*, 1997; CHAFFAI *et al.*, 2002). Por outro lado, para amostras de tecido com menores espessuras e com espalhadores menores, é vantajoso o uso de altas frequências, que oferecem uma maior riqueza de detalhes. As altas frequências são sensíveis a pequenas alterações tanto na composição de tecidos moles como na quantidade de proteínas e gorduras. Como desvantagens podem ser citadas a maior fragilidade, o maior custo dos transdutores, o aumento de ruído nos sinais e a maior atenuação ao longo da distância percorrida pela onda.

Com o objetivo de analisar as propriedades ultrassônicas da pele humana, Moran *et al.* (1995) utilizaram uma frequência de 20 a 30 MHz e mediram a atenuação, a velocidade de propagação e o IBC. Encontraram uma grande correlação entre a quantidade de proteínas e o IBC na epiderme, porém, não na derme. A falta de correlação observada na derme foi atribuída à grande variação de valores observados na orientação das fibras de colágeno. Já na epiderme, a quantidade de queratina foi devidamente correlacionada e condizente com resultados progressos de outros autores (HARLAND *et al.*, 1993) que identificaram um aumento do espalhamento em lesões de pele com acréscimo da quantidade da proteína.

Ajay e Kaczkowski (2008) desenvolveram um método para medir a difusividade térmica utilizando sinais de RF de retroespalhamento coletados por transdutor de imagem. Com o uso de um feixe de ultrassom de alta intensidade, induziram um aumento de temperatura de 10 °C no tecido, e coletaram sinais durante o aquecimento e resfriamento. A difusividade térmica foi estimada analisando o deslocamento espaço-temporal do sinal de RF causado pela temperatura. Esta técnica se mostra promissora no

monitoramento de terapias que causem variação de temperatura no corpo além de ser mais um meio para caracterizar tecidos.

### 3.2 Tecido Ósseo

O osso é um tecido conjuntivo complexo, especializado, cuja matriz extracelular é calcificada e contém as células que a secretaram, mas que mantém certo grau de elasticidade (GARTNER, 2007; MARKS *et al.*, 1996; RHO J-Y *et al.*, 1998)

O tecido ósseo é uma das substâncias do corpo mais rígidas e resistentes (LIRANI, 2004, JUNQUEIRA, 2004, GARTNER, 2007). Isto se deve à associação dos cristais de hidroxiapatita com o colágeno (GARTNER, 2007, JUNQUEIRA, 2004). Os ossos desempenham a função de proteção de órgãos internos vitais e de suporte aos músculos, permitindo os movimentos do esqueleto (GARTNER, 2007; LITTLER *et al.*, 1952). Além disso, é um reservatório de vários minerais do corpo, a saber, armazena cerca de 99% do cálcio do corpo (GARTNER, 2007).

Os ossos têm uma cavidade central, denominada de cavidade da medula, onde aloja a medula óssea (CARLO-STELLA *et al.*, 2004; GARTNER, 2007). A medula óssea é composta por dois tipos: a vermelha, na qual se formam as células do sangue (órgão hematopoético) e a medula óssea amarela, constituída principalmente por gordura.

A maior parte do osso é constituída por matriz óssea. Esta é formada por componentes inorgânicos e orgânicos (GARTNER, 2007; JUNQUEIRA, 2004). A parte inorgânica constitui cerca de 65% do peso seco do osso e é composta principalmente por cálcio e fósforo, juntamente com outros componentes, bicarbonato, citrato, magnésio, sódio e potássio (GARTNER, 2007). Estes existem basicamente sob a forma de cristais de hidroxiapatita, mas o fosfato de cálcio amorfo também está presente. Os cristais de hidroxiapatita estão dispostos de um modo ordenado ao longo das fibras de colágeno tipo I, depositados nas regiões lacunares do colágeno, mas também estão presentes ao longo das regiões de sobreposição. Já o componente orgânico da matriz óssea inclui fibras que são, quase exclusivamente, de colágeno do tipo I (GARTNER, 2007).

As células ósseas são: osteoprogenitoras, osteoblastos, osteócitos e osteoclastos. As células osteoprogenitoras se diferenciam em osteoblastos. Os osteoblastos são responsáveis pela síntese dos componentes orgânicos da matriz óssea. Estes, uma vez

envolvidos pela matriz, se tornam quiescentes e são denominados osteócitos (GARTNER, 2007). Já os osteoclastos são células gigantes multinucleadas originárias da fusão de precursores vindos da medula óssea e são responsáveis pela reabsorção e remodelação do osso (GARTNER, 2007). Os espaços ocupados pelos osteócitos são denominados lacunas (GARTNER, 2007; JUNQUEIRA, 2004).

O osso difere de materiais estruturais usados em engenharia, pois ele é auto-reparador (CORNEL, 2004; LIRANI, 2004; MATUSIN, 2009) e pode alterar suas propriedades e geometria em resposta a mudanças na demanda mecânica (CORNEL, 2004; LIRANI, 2004, GARTNER, 2007). Por exemplo, pressões aplicadas sobre o osso levam à sua reabsorção, enquanto a tração leva ao desenvolvimento de novo tecido ósseo (CORNEL, 2004; LIRANI, 2004).

A classificação dos ossos se dá pela sua forma anatômica. Assim tem-se a seguinte classificação (GARTNER, 2007):

- Ossos longos: possuem um corpo situado entre duas epífises (por exemplo, Tíbia e Fêmur).
- Ossos curtos: possuem aproximadamente a mesma largura e o mesmo comprimento (por exemplo, ossos do carpo do punho).
- Ossos chatos: são achatados, delgados e semelhantes a uma placa (por exemplo, ossos que formam a caixa craniana).
- Ossos irregulares: têm uma forma irregular e não pode ser incluído nas outras classes (por exemplo, ossos esfenoíde do crânio).
- Ossos sesamóides: formam-se dentro de tendões (por exemplo, patela).

O corpo de um osso longo é denominado diáfise, e as extremidades articulares são denominadas epífises (cabeças) (Figura 3.1). A extremidade articular do osso é dilatada e esculpida de modo a se articular com sua contraparte óssea da articulação. A superfície da extremidade articular é coberta somente por uma delgada camada de osso compacto, sobrejacente ao osso esponjoso. Em cima desta camada fica a cartilagem hialina articular, altamente polida, que reduz a fricção ao se movimentar contra a cartilagem articular da contraparte óssea da articulação. A área de transição entre a placa epifisária e a diáfise é denominada metáfise, onde ficam localizadas colunas de osso esponjoso. A placa epifisária e a metáfise são responsáveis pelo crescimento do osso em comprimento.

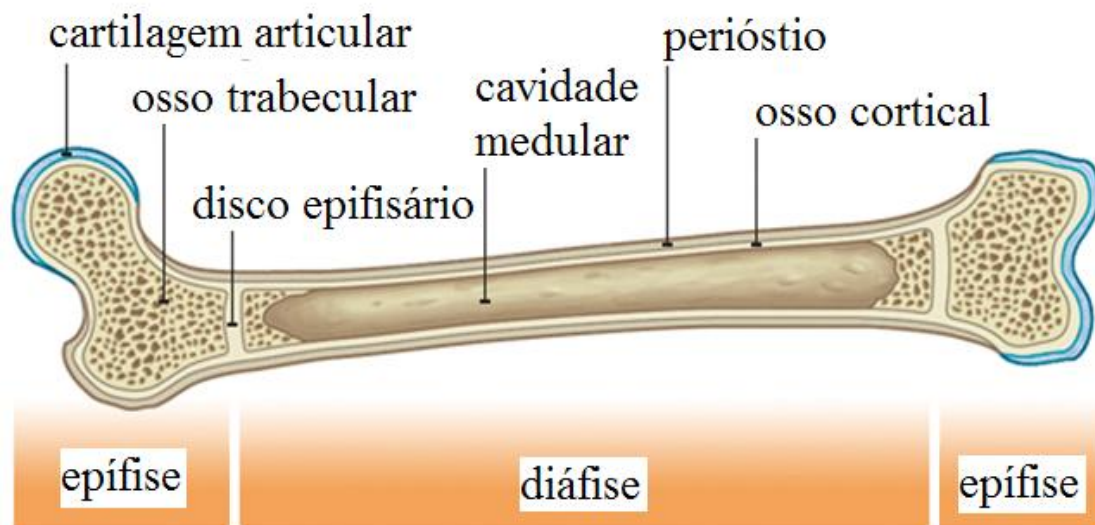


Figura 3.1 (BBC, 2010): figura demonstrando a localização dos tecidos que compõem o osso longo.

A observação macroscópica do fêmur, um osso longo, cortado longitudinalmente mostra dois tipos diferentes de estrutura óssea: cortical e trabecular. A superfície externa é constituída por osso compacto e praticamente sem medula (JACOBS, 2000). Revestindo o osso cortical, encontra-se o perióstio, uma membrana que contém osteoblastos em sua face interna (JACOBS, 2000).

O osso trabecular é a porção porosa da cavidade medular e é encontrado interiormente nas extremidades dos ossos (JACOBS, 2000). É menos denso e mais elástico que o osso cortical, possui porosidade de 50% a 90%. As trabéculas se alinham de acordo com direcionamento das forças exercidas (GIBSON, C. J., 2003).

A observação mais íntima do osso esponjoso mostra trabéculas ósseas ramificadas e espículas projetando-se da superfície interna do osso compacto para a cavidade da medula. Não há sistemas de Havers (sistema funcional fundamental) no osso esponjoso, mas há arranjos irregulares de lamelas. Estas contêm lacunas abrigando osteócitos, que são nutridos por difusão da cavidade medular, que está cheia com medula óssea.



### 3.3 Caracterização óssea

Hakulinen *et al.* (2004), objetivando conhecer a densidade e propriedades mecânicas do osso trabecular, utilizaram os parâmetros de banda larga de retroespalhamento (BUB) do ultrassom e o coeficiente de reflexão integrada (IRC) em 41 amostras de osso trabecular bovino *in vitro*. Concluíram que tanto o BUB quanto IRC são parâmetros promissores para a avaliação de densidade e propriedades mecânicas do osso trabecular. Além disso, esses parâmetros podem ser determinados com um único transdutor, assim permitindo medições em vários locais de fratura clinicamente relevantes.

Em 1997, LAUGIER *et al.* compararam as propriedades acústicas do tecido ósseo com a densidade mineral óssea de calcâneo humano obtida por tomografia computadorizada quantitativa (TCQ). As propriedades acústicas utilizadas foram o coeficiente de atenuação e a velocidade de propagação, pelo método de transmissão, utilizando dois transdutores de 0,5 MHz. Houve uma alta correlação entre os valores dos parâmetros acústicos e da TCQ, sugerindo que estes parâmetros são capazes de identificar a quantidade de tecido ósseo.

CHAFFAÏ *et al.* (2002) relacionaram, além do coeficiente de atenuação e velocidade de propagação, o BUB (semelhante ao IBC) à densidade óssea por TCQ e a microarquitetura do tecido ósseo do calcâneo avaliado por microtomografia de 10 µm de resolução. A associação entre os parâmetros acústicos e a densidade foi testada por regressão linear multivariável e indicou uma alta correlação entre todos os parâmetros com a densidade. Apesar da alta correlação entre IBC e a microarquitetura, não foi notada nenhuma vantagem deste parâmetro em relação aos outros.

WEAR *et al.* (2000) efetuaram um estudo comparando os parâmetros ultrassônicos de atenuação, velocidade de propagação e retroespalhamento com a densitometria óssea em calcâneo humano e demonstraram que a combinação destes três parâmetros em regressão múltipla seria mais preditiva da condição óssea do que os índices de atenuação e velocidade de propagação.

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), um terço das mulheres acima de 50 anos de idade possui osteoporose. O método mais utilizado para se classificar a qualidade e a densidade óssea é a densitometria óssea, a qual utiliza raios X. O interesse em desenvolver um método por QUS está na vantagem de não utilizar

radiação ionizante, a portabilidade dos aparelhos e o baixo custo do procedimento (DROZDZOWSKA e PLUSKIEWICZ, 2005).

As desvantagens do QUS são a falta de precisão em medir as características do tecido, as medições serem limitadas ao esqueleto periférico, menor exatidão em relação ao outro método e a falta de padronização entre os aparelhos (DROZDZOWSKA e PLUSKIEWICZ, 2005).

Frost *et al.* (2001) compararam parâmetros quantitativos de ultrassom em calcâneo (coeficiente de atenuação e velocidade de propagação) com a densitometria e os fatores de risco da OMS, em 1115 mulheres pré e pós-menopausa. Notaram que as proporções entre as classificações de risco de fratura eram muito similares utilizando os três parâmetros.

Conclusão semelhante foi feita por Rodríguez *et al.* (2003) que notaram que QUS tem desempenho similar à densitometria óssea para avaliar risco de fratura osteoporótica.

O parâmetro ultrassônico Retroespalhamento Aparente Integrado (*Apparent Integrated Backscatter - AIB*), mostrou-se eficaz na caracterização de tecidos moles (BRIDAL *et al.*, 1997; CHERIN *et al.*, 1998) e, foi testado para analisar o tecido ósseo (HOFFMEISTER *et al.*, 2006). Hoffmeister *et al.*, (2006) concluiu que o parâmetro AIB também é eficiente para caracterizar o tecido ósseo.

O Coeficiente de Reflexão Integrado (*Integrated Reflection Coefficient - IRC*) (CHERIN *et al.*, 1998) é um parâmetro ligado à diferença de impedância acústica entre o tecido e o meio de acoplamento que, por sua vez, é relacionado diretamente com a densidade. Porém, apenas densidade não é capaz de prever as propriedades mecânicas. A matriz óssea é composta de hidroxapatita de cálcio e colágeno, sendo que este segundo componente interfere diretamente na força e resistência do tecido (WANG *et al.*, 2001).

Hakulinen *et al.* (2007) compararam a capacidade de velocidade de propagação, Atenuação Ultrassônica da Banda passante Normalizada (nBUA), AIB e IRC em prever as propriedades mecânicas do osso trabecular de bovinos. Tendo como referência parâmetros mecânicos e densitometria óssea, AIB e IRC se mostram promissores para a avaliação de densidade e propriedades mecânicas, enquanto o valor de  $c$  mostrou forte correlação com os parâmetros mecânicos e nBUA não indicou correlação significativa. Hoffmeister *et al.*, (2008) analisaram osso trabecular humano com o parâmetro AIB e acrescentaram dois parâmetros provenientes do espalhamento: Inclinação Freqüencial

do Retroespalhamento Aparente (*Frequency Slope Apparent Backscatter* - FSAB) e a Inclinação Temporal do Retroespalhamento Aparente (*Time Slope Apparent Backscatter* - TSAB). Os resultados foram relacionados com parâmetros mecânicos e apresentaram boa correlação.

Enfim, há uma busca pelos grupos de pesquisa de métodos e parâmetros que melhor se adequam para caracterizar o tecido ósseo, a fim de detectar possíveis doenças e monitorar tratamentos para lesões ósseas. Foram propostos vários parâmetros para caracterização óssea, sendo o AIB o parâmetro mais promissor para caracterização do tecido ósseo, porém ainda não há uma padronização do método a ser aplicado e os resultados ainda não permitem o uso com mais frequência desses parâmetros no meio clínico.

## **4 Materiais e Métodos**

Neste tópico serão apresentados o conjunto experimental para aquisição dos sinais de US e os parâmetros quantitativos baseados na reflexão e no retroespalhamento ultrassônico.

### **4.1 Normativas éticas**

Esta pesquisa está inserida como parte das atividades cobertas pelo projeto intitulado “Efeito do ultra-som associado à implantação de células-tronco na recuperação de pseudo-artrose em modelo animal” (Financiado pela FAPERJ), já foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) (E-26/102.972/2008), e seguiu as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e a legislação nacional de vivisseção animal em vigor (Lei Federal 11.794 de 08 de outubro de 2008).

### **4.2 Modelo experimental**

A amostra consistiu de 7 ratos *Wistar (Rattus norvegicus albinus)* fêmeas como modelo animal, com peso entre 200 a 250 g. Destes, foram utilizados apenas 6 ratos para o experimento *in vitro*. Antes de iniciar a eutanásia dos animais para preparar os fêmures para o estudo *in vitro*, um rato morreu e por desconhecimento da causa foi decidido não usar o animal para o estudo *in vitro*. Para o experimento *in vitro*, o membro traseiro do animal foi desarticulado do quadril e dissecado. Depois os fêmures ficaram por um período de dois meses, em média, na presença de larvas de besouro, para a retirada por completo do tecido mole.

Os animais, provenientes do Biotério do laboratório de Cirurgia Experimental da UFRJ, foram mantidos em gaiolas de ferro recozido (5 animais por gaiola), em ambiente higienizado, com água e ração comercial *ad libitum* e iluminação com ciclos de 12 h (12 h com luz e 12 h no escuro).

### 4.3 Protocolo de aquisição de sinais:

Para aquisição dos sinais, seguiu-se o protocolo abaixo (Figura 4.1):

- Os animais foram sedados com éter etílico e seus dois membros traseiros foram tricotomizados em nível do fêmur.
- O animal foi posicionado em decúbito lateral, com o membro traseiro apoiado em uma placa refletora polida de aço de 1 cm, de forma que o membro encontrasse devidamente relaxado e perpendicular ao feixe do transdutor.
- Transdutor de frequência nominal 5 MHz da marca Panametrics®, modelo V326, 10 mm de diâmetro e 40 mm de distância focal, excitado por uma placa Matec® SR9000, e os ecos visualizados em um osciloscópio Tektronix® (TDS 2024B).
- Cilindro de vidro acoplado ao transdutor, com comprimento suficiente para que a amostra permanecesse na distância focal do transdutor, com seu orifício inferior lacrado com um filme de PVC (espessura de 10,5 µm). O cilindro continha água degaseificada.
- Como material de acoplamento entre o cilindro e o membro do animal, foi colocado gel hidrossolúvel.
- O transdutor posicionado na diáfise dos fêmures (região de interesse – ROI), localizada por palpação e pelas características dos sinais (visualizados no osciloscópio).
- Depois de identificada a ROI, realizou-se a varredura para adquirir 5 sinais, com passos de 1 mm (Figura 4.2), controlados por meio de montagem estereostática.
- Adquiriu-se um sinal de referência da placa de refletora de aço polido posicionada na mesma distância do membro do animal.

No experimento *in vivo*, foi adotada a aquisição dos sinais em dois períodos, com intervalos deferentes, respeitando as mesmas características do ambiente (23 °C). Já no experimento *in vitro*, o intervalo das duas aquisições dos sinais foi de 10 dias. Tanto o experimento *in vivo* quanto *in vitro* foram realizados pelo mesmo pesquisador.

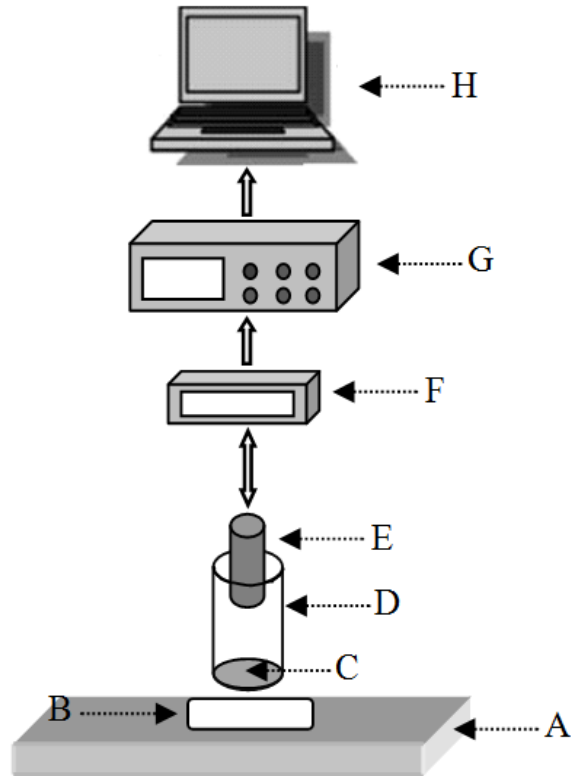


Figura 4.1: Montagem experimental: A- Placa refletora em aço; B- Fêmur do animal; C- Filme de PVC; D- Cilindro de vidro contendo água degaseificada; E- Transdutor; F- Gerador de pulso; G- Osciloscópio; H- Microcomputador.

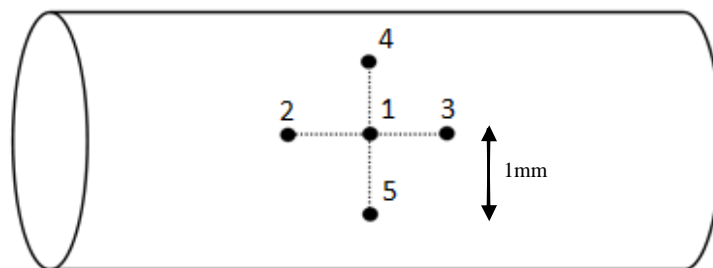


Figura 4.2: Deslocamento do transdutor com passo de 1 mm para coleta dos sinais na área de interesse, considerando que a posição 1 foi centralizada na ROI (após palpação).

Para realizar os cálculos necessários para implementar os algoritmos, as espessuras dos tecidos que compõem os membros do animal foram estimadas a partir de

imagens modo-B (VEVO® 770, transdutor de 30 MHz) (Figura 4.3). As espessuras de pele, gordura e músculo foram, respectivamente: 0,75mm, 1,76 mm e 5,09 mm.

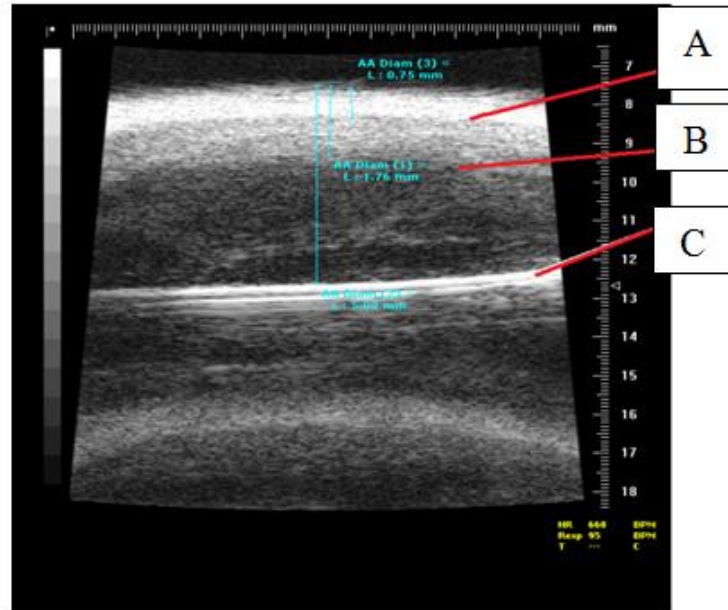


Figura 4.3: Exemplo de imagem modo-B na diáfise do fêmur, mostrando os tecidos e as distâncias até a superfície: A– distância derme/gordura: 0,75mm; B– distância gordura/músculo: 1,76 mm; C – distância músculo/osso: 5,09 mm.

A região de eminência de cada eco foi identificada a partir da obtenção dos sinais pulso-eco, conforme a Figura 4.4.

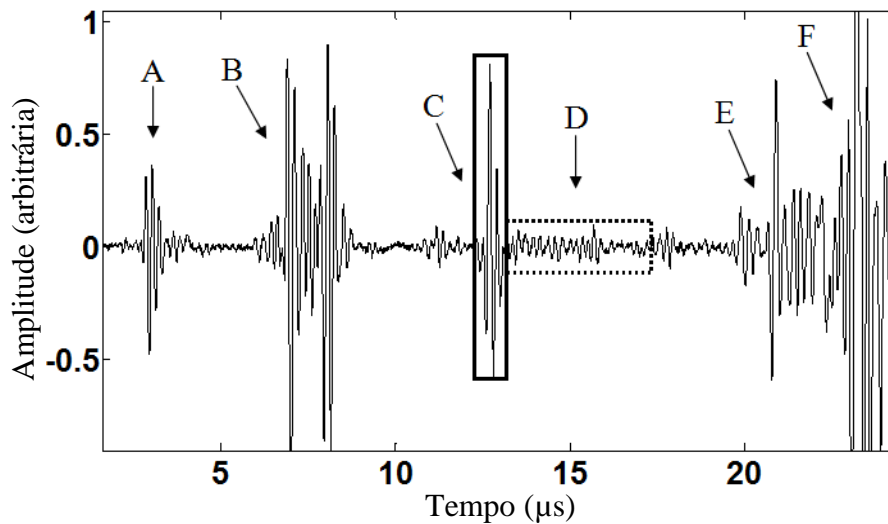


Figura 4.4: Exemplo de sinal RF experimental, indicando os ecos das estruturas. A - membrana; B - pele; C - osso (reflexão- linha cheia); D - osso (espalhamento- linha pontilhada); E - pele (entre a pata/gel); F – placa refletora.

#### 4.4 Medição dos parâmetros ultrassônicos:

As partes do sinal RF utilizadas para a caracterização da diáfise óssea de fêmures, foram: o eco de reflexão na superfície do osso e o espalhamento da região interna do osso. De acordo com Matusin *et al.* (2007), para identificar essa reflexão, primeiramente, deve-se determinar a duração do eco de referência, selecionando os seus limites através de um limiar de 10% da amplitude máxima (Figura 4.5). Estes limites estabelecem uma janela que é usada para identificar o eco da superfície óssea. Esta janela é centrada sobre a localização do pico da amplitude do sinal de referência (Figura 4.6.a) e será centrada no pico de amplitude do sinal da superfície do osso (Figura 4.6.b). A partir do final do eco de reflexão, inicia-se o sinal de retroespalhamento (que não é contaminado pelo eco da interface músculo/osso), com uma duração de 4  $\mu$ s (equivalente a 3 mm de tecido mole). Este tempo foi escolhido para garantir que o sinal de retroespalhamento vem de dentro do osso, que tem um diâmetro médio estimado de 5 mm (MATUSIN *et al.*, 2009).

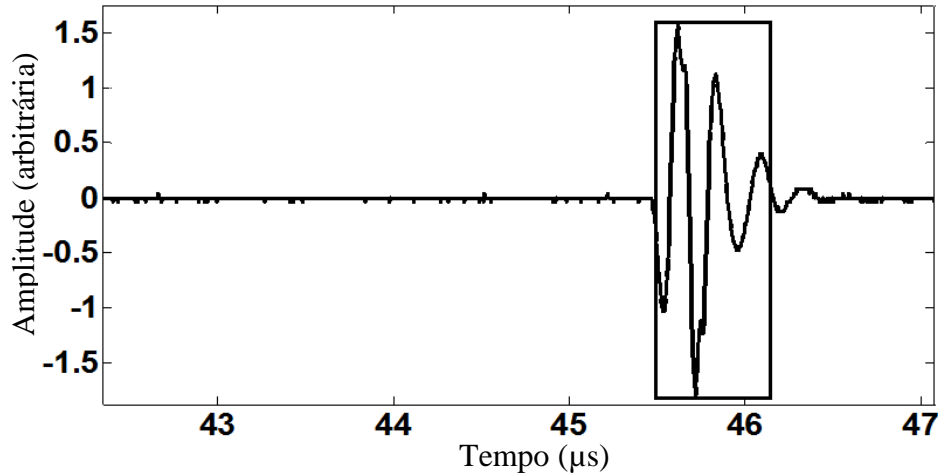


Figura 4.5: Eco de referência selecionado em janela com limites em 10% da amplitude do pico.



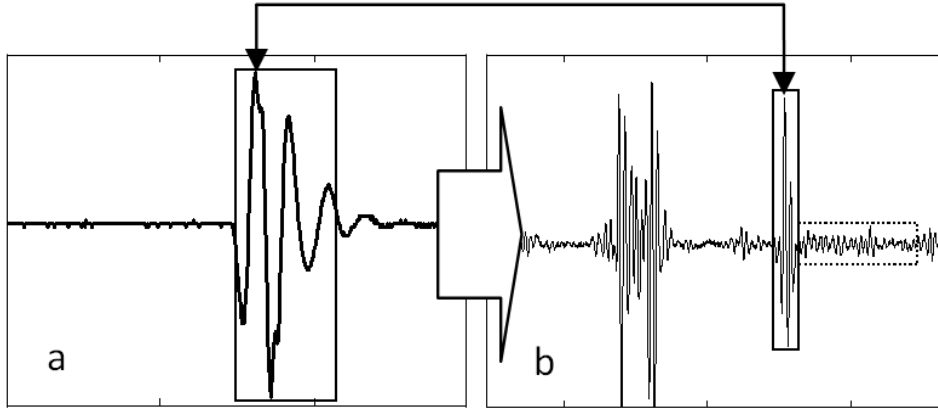


Figura 4.6: (a) Definição da janela sobre o eco refletido da placa de aço de referência (limites extremos de 10% do pico de amplitude). (b) A janela de referência centralizada sobre o eco da interface músculo/osso. Os ecos remanescentes (janela tracejada) são do retroespalhamento proveniente das estruturas internas do osso.

Quatro parâmetros foram utilizados para quantificar os ecos, conforme Hoffmeister (2008): AIB, FSAB, TSAB e IRC. Os três primeiros parâmetros (AIB, FSAB e TSAB) foram adquiridos a partir da Função de Transferência do Retroespalhamento Aparente (*Apparent Backscatter Transfer Function - ABTF*) dada pela Equação 4.11:

$$ABTF = 10\log_{10} P_{specimen}(f) - 10\log_{10} P_{reference}(f) \quad \text{Eq.4.1}$$

onde  $P_{specimen}$  e  $P_{reference}$  são os espectros de potência do sinal da amostra e do sinal de referência respectivamente. O AIB é determinado pela integração da curva ABTF, conforme a Equação 4.12:

$$AIB = \frac{\int_{f_{min}}^{f_{max}} [ABTF].df}{f_{max} - f_{min}} \quad \text{Eq.4.2}$$

O AIB expressa o valor médio do retroespalhamento aparente em uma faixa de frequência estudada (Figura 4.7).

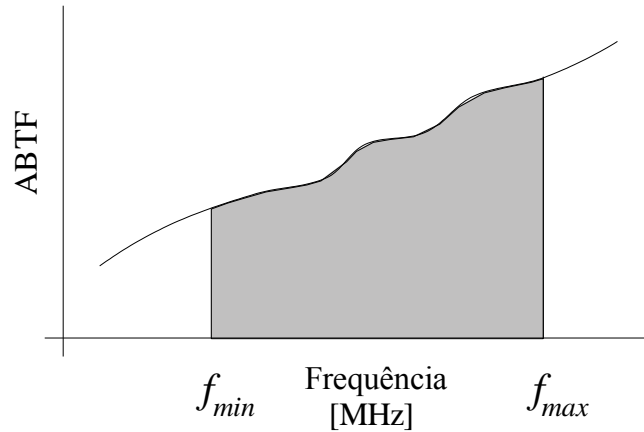


Figura 4.7 (MATUSIN, 2009): figura demonstrando a integração do ABTF na banda de frequência do transdutor para obtenção do AIB.

O *FSAB* (Figura 4.8) é o valor da inclinação da reta resultante de uma regressão linear da curva *ABTF* vs. Frequência. Representa a fração do retroespalhamento aparente correspondente a cada frequência.

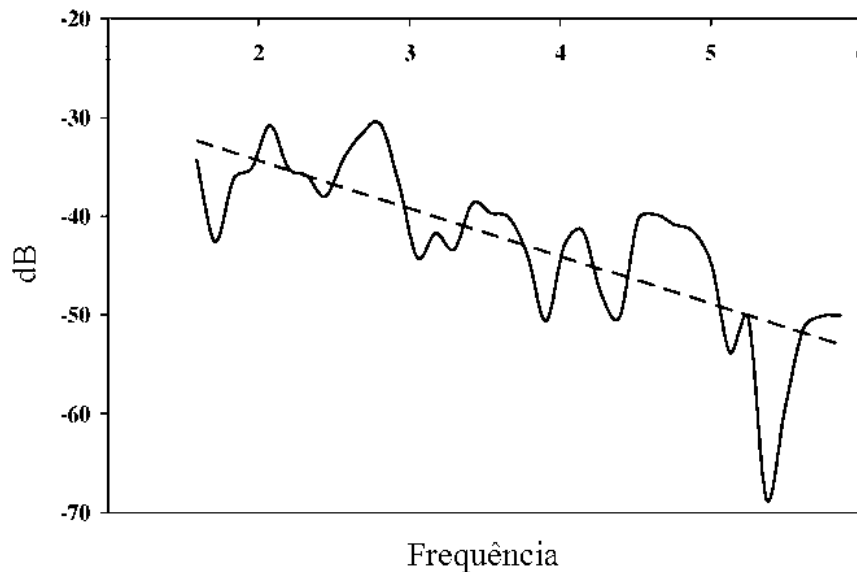


Figura 4.8 (HOFFMEISTER *et al.*, 2008): ilustra a regressão linear do ABTF para obter o FSAB.

O *TSAB* é o valor da inclinação de uma regressão linear dos valores de *AIB* (em função do tempo), calculados a partir do sinal de retroespalhamento dividido em cinco janelas retangulares com o mesmo intervalo. Representa a variação do retroespalhamento à medida que a onda se propaga pelo tecido.

Já o *IRC* é calculado como o *AIB*, usando como integrando uma função do eco de reflexão cuja a definição é similar àquela do *ABTF* (HAKULINEN, 2004), conforme a Equação 4.3.

$$IRC = \frac{\int_{f_{\min}}^{f_{\max}} [ABTF_{rx}] \cdot df}{f_{\max} - f_{\min}} \quad \text{Eq.4.3}$$

A Inclinação Freqüencial da Reflexão Integrado (*Frequency Slope Integrated Reflection - FSIR*) é o valor da inclinação da regressão linear dos valores de *IRC*. O *FSIR* é calculado de forma semelhante ao *FSAB* que é um parâmetro encontrado na literatura (HOFFMEISTER *et al.*, 2008). Deste modo, o *FSIR* é a fração da reflexão aparente correspondente a cada freqüência.

A partir dos cinco sinais para cada membro posterior, são calculados os cinco parâmetros (usando *ABTF* e *ABTF<sub>rx</sub>*). Os valores médios destes são tomados como representativos de cada amostra. Assim, cada uma destas fica caracterizada por cinco parâmetros. Além disso, para conhecer o quão é significativa a variação dos sinais devida à variação anatômica, também analisamos apenas 3 sinais ao longo do osso (Figura 4.9). Isto foi possível desconsiderando os dois últimos sinais dos 5 sinais coletados (Figura 4.2).

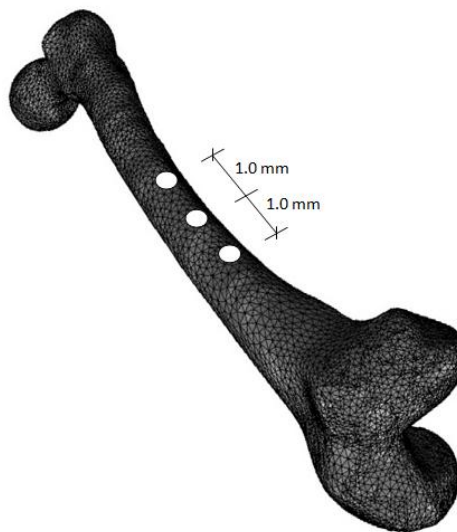


Figura 4.9: 3 sinais RF ao longo do terço médio da diáfise do fêmur, com um passo de 1mm entre eles.

Assumindo que no experimento *in vivo* o meio é constituído de quatro camadas (pele, músculo, gordura e osso), é necessário definir um fator de correção para compensar a atenuação das amplitudes dos ecos do osso durante o caminho de propagação. Este fator  $A_f$  pode ser escrito da seguinte forma (Equação 4.14):

$$A_f = e^{2\alpha_s \cdot x_s} T_{s/f}^2 e^{2\alpha_f \cdot x_f} T_{f/m}^2 e^{2\alpha_m \cdot x_m} \quad \text{Eq.4.4}$$

$s$ ,  $f$  e  $m$  são, respectivamente, os índices relacionados a camada de pele, gordura e músculo. Já  $\alpha_s$ ,  $\alpha_f$  e  $\alpha_m$  são os coeficientes de atenuação para cada camada. Por sua vez,  $x_s$ ,  $x_f$  e  $x_m$ , são as espessuras de cada camada.  $T_{s/f}$  e  $T_{f/m}$  indicam, respectivamente, o coeficiente de transmissão para as interfaces pele/gordura e gordura/músculo.

#### 4.6 Simulação Computacional

O *software* Wave2000<sup>®</sup> (CYBERLOGIC<sup>®</sup>, 2011) foi utilizado para simular a irradiação ultrassônica para os casos *in vivo* (quatro camadas (pele/gordura/músculo/osso) e *in vitro* (camada de água e osso), conforme Figura 4.12). A simulação ocorreu com o método pulso-eco, com pulso de onda plana do tipo senoidal e envoltória gaussiana e frequência central de 5 MHz.

Os valores das propriedades velocidade longitudinal e densidade foram obtidos da literatura (Tabela 4.1). Já os coeficientes de atenuação para 5 MHz (Tabela 4.2) foram obtidos a partir de valores encontrados na literatura para 1 MHz, multiplicando-os por 5, aceitando a aproximação linear com a frequência. A simulação manteve as mesmas dimensões, em 2D, do transdutor e da placa aço refletora.

**Tabela 4.1 – Valores das propriedades acústicas dos meios**

Tipo de Material	Velocidade (m.s <sup>-1</sup> )	Densidade (kg.m <sup>-3</sup> )	Fonte
Pele	1615	1090	ICRU Report 61
Gordura	1450	950	ICRU Report 61
Músculo esquelético	1580	1050	ICRU Report 61
Osso cortical	3466*	1850**	* Bjørn A. J. 2000
Medula	1580	1055	Cyberlogic
Placa de aço	5900	7900	Cyberlogic

\*\*Valor adotado na pesquisa

**Tabela 4.2 – Valores dos coeficientes de atenuação dos tecidos biológicos a 5 MHz**

<b>Tipo de tecido biológico</b>	<b>Coefficiente de atenuação (dB.cm<sup>-1</sup>)</b>
Pele	1,75
Gordura	1,45
Músculo esquelético	3,7
Osso cortical	27,5
Medula	25

\*Valores obtidos a partir dos valores da literatura (ICRU Report 61; Bjørn A. J. 2000) a 1MHz multiplicados por cinco.

Para aquisição dos sinais no software Wave2000<sup>®</sup>, segue-se o protocolo abaixo:

- A densidade é informada diretamente.
- O coeficiente de atenuação é ajustado pelas variáveis “ETA” e “PHI” (pertencentes ao software Wave2000<sup>®</sup>).
- A velocidade e a impedância acústica são ajustadas pelas variáveis “Mu” e “lambda” do programa.
- Para calcular Mu, encontra-se a velocidade transversal no próprio software e eleva-se ao quadrado, multiplicando este valor pela densidade do meio.
- Calcula-se lambda, segundo a Equação 4.14:

$$Lambda = \left[ \rho(V_L^2) \right] - 2Mu \quad \text{Eq.4.14}$$

onde:

$\rho(\text{kg.m}^{-3})$ : densidade

$V_L(\text{m.s}^{-1})$ : velocidade longitudinal do respectivo meio.

Duas simulações foram realizadas no Wave2000<sup>®</sup>. Uma simulando o experimento *in vivo* (Figura 4.10) e outra simulando o experimento *in vitro* (Figura 4.11).

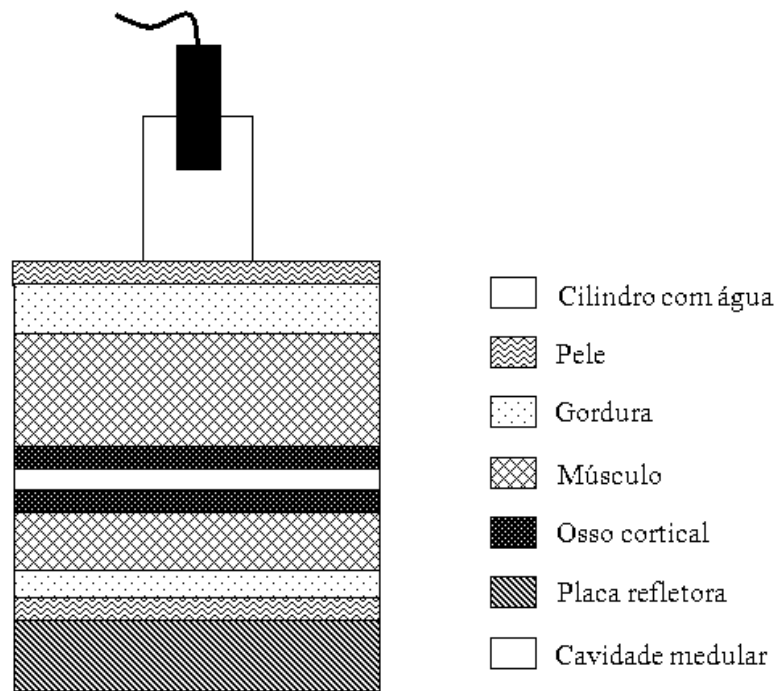


Figura 4.10: Geometria da simulação *in vivo* no software Wave2000<sup>®</sup>. Espessuras idênticas às da Figura 4.4.

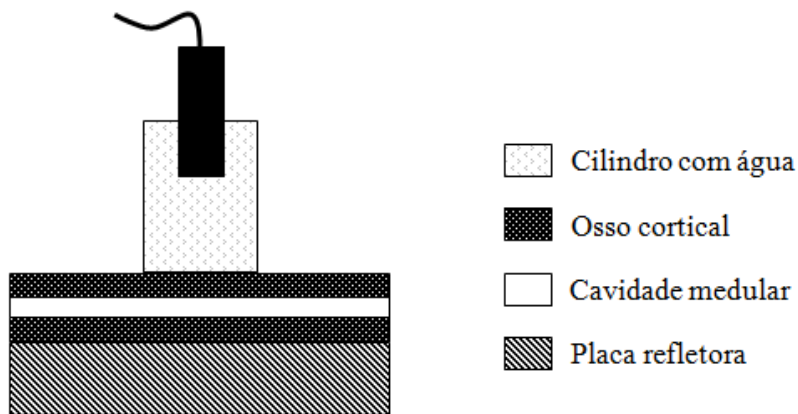


Figura 4.11: Geometria da simulação *in vitro* no software Wave2000<sup>®</sup>.

#### 4.7 Análise estatística

A fim de testar a hipótese nula (todos os parâmetros pertencem a mesma população), assim como, avaliar a repetitividade dos parâmetros e do método utilizado para a aquisição dos sinais, foi realizada a análise estatística através do teste t de *Student* pareado, considerando-se um nível de significância  $\alpha=0,05$ , implementada no software Matlab<sup>®</sup> 2008A.

#### **4.8 Programa em Matlab**

O programa em Matlab<sup>®</sup> 2008A foi desenvolvido para calcular os parâmetros (AIB, FSAB, TSAB, IRC e FSIR) a partir dos sinais ultrassônicos provenientes dos tecidos biológicos e dos sinais de referência da placa refletora.

## 5 Resultados

Este capítulo apresenta os resultados *in vivo* e *in vitro* em busca da repetitividade e reprodutibilidade do método (anexo II).

Primeiramente, foram realizados 2 experimentos em 7 ratos *Wistar in vivo* e os valores médios dos parâmetros obtidos de 5 sinais de cada membro inferior de cada animal, no experimento 1 e experimento 2, são mostrados na Tabela 5.1.

**Tabela 5.1 – Média e desvio-padrão para cada parâmetro em cinco sinais RF *in vivo* – AIB, FSAB, TSAB, IRC e FSIR**

<b>Experimento</b> <i>(in vivo)</i>	<b>AIB</b> <b>(dB)</b>	<b>FSAB</b> <b>(dB.MHz<sup>-1</sup>)</b>	<b>TSAB</b> <b>(dB.μs<sup>-1</sup>)</b>	<b>IRC</b> <b>(dB)</b>	<b>FSIR</b> <b>(dB.MHz<sup>-1</sup>)</b>
1	-52,38 ± 5,49	0,30 ± 1,88	-0,24 ± 1,26	-34,22 ± 3,01	0,44 ± 1,03
2	-49,98 ± 6,41	0,17 ± 1,25	-0,22 ± 1,81	-37,58 ± 5,08	0,48 ± 2,17

Também foram analisado os valores médios dos parâmetros obtidos de 3 sinais RF (ao longo do fêmur) de cada membro inferior de cada animal (Tabela 5.2).

**Tabela 5.2 – Média e desvio-padrão para cada parâmetro em três sinais RF *in vivo* – AIB, FSAB, TSAB, IRC e FSIR**

<b>Experimento</b> <i>(in vivo)</i>	<b>AIB</b> <b>(dB)</b>	<b>FSAB</b> <b>(dB.MHz<sup>-1</sup>)</b>	<b>TSAB</b> <b>(dB.μs<sup>-1</sup>)</b>	<b>IRC</b> <b>(dB)</b>	<b>FSIR</b> <b>(dB.MHz<sup>-1</sup>)</b>
1	-59,49 ± 6,61	-0,33 ± 1,66	-0,19 ± 2,47	-32,24 ± 5,53	0,08 ± 0,81
2	-60,67 ± 3,16	-1,42 ± 1,37	-0,62 ± 1,06	-29,87 ± 3,99	0,38 ± 2,03

Posteriormente, foram realizados mais 2 experimentos em 6 ratos *Wistar in vitro* (os mesmos que participaram do experimento *in vivo*) e os valores médios dos parâmetros obtidos de 5 sinais de cada membro inferior de cada animal são apresentados na Tabela 5.3.



**Tabela 5.3 – Média e desvio-padrão para cada parâmetro em cinco sinais RF *in vitro* – AIB, FSAB, TSAB, IRC e FSIR**

<b>Experimento</b> <i>(in vitro)</i>	<b>AIB</b> (dB)	<b>FSAB</b> (dB.MHz <sup>-1</sup> )	<b>TSAB</b> (dB.µs <sup>-1</sup> )	<b>IRC</b> (dB)	<b>FSIR</b> (dB.MHz <sup>-1</sup> )
1	-45,21 ± 3,34	-0,80 ± 1,28	-2,05 ± 1,53	-23,83 ± 4,78	-0,19 ± 1,32
2	-41,98 ± 3,53	-0,10 ± 1,25	-1,67 ± 1,31	-26,28 ± 3,50	0,90 ± 1,78

Da mesma forma como nos experimentos *in vivo*, foram, também, analisados os valores médios dos parâmetros obtidos de 3 sinais (ao longo do fêmur) de cada membro inferior de cada animal (Tabela 5.4).

**Tabela 5.4 – Média e desvio-padrão para cada parâmetro em três sinais RF *in vitro* – AIB, FSAB, TSAB, IRC e FSIR**

<b>Experimento</b> <i>(in vitro)</i>	<b>AIB</b> (dB)	<b>FSAB</b> (dB.MHz <sup>-1</sup> )	<b>TSAB</b> (dB.µs <sup>-1</sup> )	<b>IRC</b> (dB)	<b>FSIR</b> (dB.MHz <sup>-1</sup> )
1	-44,89 ± 3,31	-1,34 ± 1,67	-2,30 ± 1,47	-8,99 ± 3,24	-0,57 ± 1,44
2	-42,36 ± 3,65	-0,50 ± 1,99	-1,31 ± 1,73	-7,86 ± 3,43	0,48 ± 1,58

Os experimentos também foram simulados no *software* Wave2000<sup>®</sup> e os cinco parâmetros foram calculados para o experimento *in vivo* e *in vitro* (Tabela 5.5).

**Tabela 5.5 – parâmetro calculados para os experimentos *in vivo* e *in vitro* – AIB, FSAB, TSAB, IRC e FSIR**

<b>Experimento</b>	<b>AIB</b> (dB)	<b>FSAB</b> (dB.MHz <sup>-1</sup> )	<b>TSAB</b> (dB.µs <sup>-1</sup> )	<b>IRC</b> (dB)	<b>FSIR</b> (dB.MHz <sup>-1</sup> )
<i>in vivo</i>	-42,34	-1,37	-6,83	-36,878	-1,17
<i>in vitro</i>	-38,34	-1,93	-4,83	-21,11	-0,17

Para testar a hipótese (nula) de que os parâmetros AIB, FSAB, TSAB, IRC e FSIR pertencem à mesma população, usou-se o teste *t-Student* pareado para  $p < 0,05$ . O teste mostrou que o método foi repetitivo em diferentes períodos nos experimentos *in vivo* e *in vitro*.

## 6 Discussão

Neste capítulo se discutem os resultados encontrados na pesquisa, comparando-os também com os estudos de outros autores.

Foi proposta a caracterização dos ossos longos intactos *in vivo* e *in vitro* em modelo animal, por meio do método pulso-eco ultrassônico. Para atingir este objetivo, foram utilizados cinco parâmetros para caracterizar o osso: AIB, FSAB, TSAB, IRC e FSIR. O experimento foi realizado nos mesmos animais em períodos diferentes, com intervalos de 12 dias, visando conhecer a repetitividade do método proposto.

Devido ao fato do estudo realizar-se em um animal de pequeno porte *in vivo*, foi utilizado um transdutor de 5 MHz, pois permitiria uma melhor resolução do que transdutores de frequências inferiores (FORTIN *et al.*, 2003). Usou-se como modelo animal o rato *Rattus norvegicus albinus*, linhagem *Wistar*, por ser de fácil manuseio em pesquisa e as características do tecido ósseo semelhantes aos dos humanos.

Na literatura, os parâmetros AIB e FSAB já foram propostos para contribuir para a caracterização do osso (HOFFMEISTER *et al.*, 2008; MATUSIN *et al.*, 2010). Em estudos anteriores, o AIB demonstrou potencial para caracterizar tecidos moles (BRIDAL *et al.*, 1997; CHÉRIN *et al.*, 1998).

Na presente pesquisa, foi adotada a aquisição do sinal em cinco pontos (em formato de cruz) controlados por posicionador estéreo-estático, assegurando uma aquisição realizada dentro da ROI, buscando assim uma pequena variação anatômica e, portanto, uma pequena variação no sinal, o que está de acordo com o trabalho de Matusin *et al.* (2010). Além disso, objetivando adquirir sinais com menores influências das variações anatômicas, foram analisados, também, apenas três pontos ao longo do fêmur.

Em trabalho anterior, Matusin *et al.* (2010) realizaram uma varredura ao longo do comprimento do osso de ratos e concluíram que esta metodologia apresentou uma variação de sinal, que produziu alto desvio-padrão para os parâmetros AIB e FSAB. O presente estudo concluiu que, adquirindo 3 sinais ao longo do terço médio do fêmur, há menores variações do que a aquisição de 5 sinais em forma de cruz no terço médio do fêmur. Isto pode ser explicado pelo formato do osso estudado não ser planos, assim, os pontos mediais e laterais se localizariam na região mais convexa do osso e isto influenciaria na aquisição do sinal.

Nos experimentos *in vivo* 1 e 2, considerando 5 pontos, os valores médios para o parâmetro AIB foram, respectivamente:  $-52,38 \pm 5,49$  dB e  $-49,98 \pm 6,41$  dB, que estão próximos dos resultados do experimento de MATUSIN *et al.* (2010), que utilizou ratos Wistar em osso cortical diafisário:  $-47,64$  dB. Já considerando apenas 3 pontos ao longo do fêmur, para o parâmetro AIB foram encontrados, nos experimentos 1 e 2, respectivamente  $-59,49 \pm 6,61$  dB e  $-60,67 \pm 3,16$ . Esses resultados se afastaram dos resultados de Matusin *et al.* (2010), mas, de uma forma geral, apresentaram um menor desvio-padrão. Isto é uma forte indicação de que a aquisição de sinais em 5 pontos sofre mais influência das variações anatômicas do osso.

Hoffmeister *et al.* (2008) também encontraram um valor médio de AIB  $-40,9$  dB  $\pm 2,0$  dB para osso trabecular humano (sem osso cortical), na frequência de 5 MHz. Talvez a diferença entre os achados nesta pesquisa e os de Hoffmeister *et al.* (2008) seja devido ao fato de se ter utilizado a correção de atenuação de tecidos moles e uma ROI menor, a fim de garantir uma pequena variação anatômica. Isto pode explicar o pequeno desvio-padrão para AIB. Além disso, a diferença nos achados pode ser devida à diferença de estrutura anatômica entre o osso trabecular e cortical. Possivelmente, a presença do córtex mais denso e espesso, pode ter aumentado a perda de energia por reflexão bem como, a quantidade inferior de trabéculas ósseas diminui o espalhamento, assim repercutindo em valores menores para AIB. Diferente da pesquisa de Hoffmeister *et al.* (2008), este experimento foi realizado em fêmures *in vivo*, contendo, portanto, uma maior quantidade de colágeno. Riekkinen *et al.*, 2007 e Hoffmeister *et al.* (2002) encontraram uma correlação negativa entre AIB e a concentração de colágeno, favorecendo os achados de Wear *et al.* (1999) que observaram um espalhamento menor em espalhadores elásticos comparados com inelásticos. Outra explicação para disparidades nos resultados ao se comparar o presente trabalho com o de Hoffmeister *et al.* (2008) é o fato de que a densidade do tecido influencia negativamente no retroespalhamento (HOFFMEISTER *et al.*, 2008). A repetitividade do método para AIB foi confirmada por teste estatístico t-Student.

Neste trabalho, foram realizadas aquisições de sinais RF em *in vitro*. O experimento foi repetido duas vezes, com intervalo de 10 dias, para analisar a repetitividade do método e, além disso, também, foram analisados os parâmetros em 5 pontos e em três pontos de coleta. Para o AIB, no experimento 1 e 2 em cinco pontos os valores foram, respectivamente:  $-45,21 \pm 3,34$  dB e  $-41,98 \pm 3,53$  dB e para três pontos foram de  $-44,89 \pm 3,31$  dB e  $-42,36 \pm 3,65$  dB. Estes resultados, aproximam-se mais dos

encontrados por Hoffmeister *et al.* (2008). Esta aproximação justifica-se pelo fato dos estudos terem sido realizados *in vitro*.

Os valores médios dos parâmetros FSAB, considerando 5 pontos, neste estudo foram  $0,30 \pm 1,88 \text{ dB.MHz}^{-1}$  e  $0,17 \pm 1,25 \text{ dB.MHz}^{-1}$ , para os experimentos 1 e 2, respectivamente. Para 3 pontos, os valores médios de FSAB no experimento 1 e 2 foram respectivamente:  $-0,33 \pm 1,66 \text{ dB.MHz}^{-1}$  e  $-1,42 \pm 1,37 \text{ dB.MHz}^{-1}$ . Matusin *et al.* (2010), em um experimento similar, encontraram valores médios negativos para o mesmo parâmetro, porém em alguns sinais apresentaram-se positivos. Esta diferença com o parâmetro analisado por 5 pontos pode ser devida às variações anatômicas do osso, pois ao analisar em 3 pontos, os valores apresentaram-se negativos e próximos dos valores encontrados por Matusin *et al.* (2010) e por Hoffmeister *et al.* (2008) ( $-1,7 \pm 0,5 \text{ dB.MHz}^{-1}$ ). Isto sugere que o cálculo dos parâmetros em três pontos ao longo do osso elimina mais as variações anatômicas do fêmur. Além disso, Hoffmeister *et al.* (2008) usaram amostras *in vitro* e os resultados negativos para FSAB em sua pesquisa também foram encontrados na presente pesquisa, para o caso *in vitro*:  $-0,80 \pm 1,28 \text{ dB.MHz}^{-1}$  e  $-0,10 \pm 1,25 \text{ dB.MHz}^{-1}$  nos experimentos 1 e 2 em cinco pontos, respectivamente; e:  $-1,34 \pm 1,67$  e  $-0,50 \pm 1,99 \text{ dB.MHz}^{-1}$  em 3 pontos para o experimentos 1 e 2, respectivamente. O parâmetro FSAB também apresentou repetibilidade de acordo com o teste t-Student.

Com relação ao parâmetro TSAB, o resultado para 5 pontos, foi de  $-0,24 \pm 1,26 \text{ dB.}\mu\text{s}^{-1}$  e  $-0,22 \pm 1,81 \text{ dB.}\mu\text{s}^{-1}$  respectivamente para experimento 1 e 2 e para 3 pontos foi de  $-0,19 \pm 2,47 \text{ dB.}\mu\text{s}^{-1}$  e  $-0,62 \pm 1,06 \text{ dB.}\mu\text{s}^{-1}$ . Para o caso *in vitro*, nos experimentos 1 e 2, os resultados do TSAB foram respectivamente:  $-2,05 \pm 1,53 \text{ dB.}\mu\text{s}^{-1}$  e  $-1,67 \pm 1,31 \text{ dB.}\mu\text{s}^{-1}$  e para três pontos foram:  $-2,30 \pm 1,47 \text{ dB.}\mu\text{s}^{-1}$  e  $-1,31 \pm 1,73 \text{ dB.}\mu\text{s}^{-1}$ . Hoffmeister *et al.* (2008) encontraram, em osso trabecular humano, valor médio de  $-4,2 \pm 0,6 \text{ dB.}\mu\text{s}^{-1}$ . Convém ressaltar que este parâmetro está diretamente relacionado às propriedades de atenuação do tecido (LIN *et al.*, 2000), por isso são esperados resultados diferentes dos encontrados por HOFFMEISTER *et al.*, 2008 para os experimentos *in vivo*. Já Matusin *et al.* (2009) em experimento semelhante aos realizados por esta pesquisa em *in vivo* encontraram valores de  $-2,1 \pm 0,2 \text{ dB.}\mu\text{s}^{-1}$ , que são mais próximos de nossos achados.

O parâmetro IRC é calculado semelhante ao parâmetro AIB, mas considerando a porção refletida. Este parâmetro indica o grau de reflexão de um tecido, assim, um tecido mais denso apresentará maiores valores de IRC. Na presente pesquisa,

encontraram-se valores para IRC de  $-34,22 \pm 3,01$  dB e  $-37,58 \pm 5,08$  dB para os experimentos 1 e 2, respectivamente, considerando 5 sinais coletados. Considerando 3 sinais ao longo do fêmur, para este parâmetro encontraram-se valores de  $-32,24 \pm 5,53$  dB e  $-29,87 \pm 3,99$  dB. Os resultados para 3 sinais coletados são semelhantes aos resultados encontrados por Matusin *et al.* (2010) ( $-27,48 \pm 2,01$  dB). Para os experimentos *in vitro*, os valores seguiram o esperado, isto é, foram bem maiores:  $-23,83 \pm 4,78$  dB,  $-26,28 \pm 3,50$  dB (experimentos 1 e 2 para cinco pontos, respectivamente),  $-8,99 \pm 3,24$  dB e  $-7,86 \pm 3,43$  dB (experimentos 1 e 2 para três pontos, respectivamente).

Ao analisar as possíveis formas de tentar caracterizar o tecido ósseo, percebeu-se que a análise da inclinação da reta da regressão linear ao longo da frequência do parâmetro IRC poderia fornecer dados promissores que ajudariam na caracterização óssea. Deste modo, neste trabalho, introduziu-se um novo parâmetro, o FSIR, que parece estar relacionado com a densidade do córtex do osso e pode ser interessante para monitorizar o progresso de consolidação do calo ósseo. Entende-se que, quanto mais denso ele for, menos espaço resta para trabéculas e então, maior a reflexão (e o FSIR) e menor o retroespalhamento do tecido. Para este parâmetro calculado a partir de 5 sinais coletados, o resultado foi de  $0,44 \pm 1,03$  dB.MHz<sup>-1</sup> e  $0,48 \pm 2,17$  dB.MHz<sup>-1</sup> e para 3 sinais coletados foi de  $0,08 \pm 0,81$  dB.MHz<sup>-1</sup> e  $0,38 \pm 2,03$ , respectivamente para os experimentos 1 e 2. Para os experimentos *in vitro*, esta pesquisa encontrou para o FSIR, calculado a partir de cinco sinais coletados, valores de:  $-0,19 \pm 1,32$  dB.MHz<sup>-1</sup> e  $0,90 \pm 1,78$  dB.MHz<sup>-1</sup> e para 3 sinais coletados, valores de:  $-0,57 \pm 1,44$  dB.MHz<sup>-1</sup> e  $0,48 \pm 1,58$  dB.MHz<sup>-1</sup>. Embora o parâmetro FSIR apresente um alto desvio-padrão o mesmo também apresentou repetitividade de acordo com o teste t-Student. Deste modo, sugere-se que este parâmetro deva ser mais investigado.

A fim de validar o protocolo utilizado, assim como, os parâmetros de caracterização, ecos simulados foram obtidos com o software Wave2000<sup>®</sup>, a partir de configurações similares às experimentais. Os parâmetros foram calculados a partir dos sinais oriundos das camadas simuladas. No entanto, os resultados obtidos pelo Wave2000<sup>®</sup> não foram estatisticamente compatíveis aos experimentos *in vivo* e *in vitro*. Acredita-se que este fato se deve a que o meio simulado no Wave2000<sup>®</sup> não corresponde fidedignamente à anatomia do fêmur, além das interfaces entre tecidos não serem perfeitamente planas e paralelas, no experimento *in vivo*.

## 7 Conclusão

O protocolo proposto para caracterizar osso longo *in vivo* e *in vitro*, por meio do método ultrassônico pulso-eco associado à reflexão e retroespalhamento, demonstrou-se promissor para caracterizar a diáfise óssea no modelo animal *in vivo* e *in vitro*.

O parâmetro FSIR aqui proposto mostrou-se complementar aos outros parâmetros, pois parece estar relacionado à densidade do osso cortical. Estudos complementares devem ser realizados para explorar mais amplamente o potencial deste parâmetro.

Entre os passos futuros estão a experimentação em ossos bovinos, uma vez que a literatura indica sua utilização frequente, assim como em ossos humanos. Além disso, pretende-se utilizar esta técnica para caracterizar lesões ósseas.

## 8 Referências Bibliográficas

AIUM, 1995, **Methods for specifying acoustic properties of tissue mimicking phantoms and objects**. 1 ed. Maryland.

AJAY, A., KACZKOWSKI, P.J., 2008, “Noninvasive measurement of local thermal diffusivity using backscattered ultrasound and focused ultrasound heating”, **Ultrasound Med. Biol.**, v. 34, n. 9, pp. 1449–1464.

BALDWIN, S. L., MARUTYAN, K. R., YANG, M. et al., 2005, “Estimating myocardial attenuation from m-mode ultrasonic backscatter”, **Ultrasound Med. Biol.**, v. 31, n. 4, pp. 477–484.

BAMBER, J. C., 1998, **Ultrasonic properties in tissues**. In: Duck, F.A., Baker, A.C, Starritt, H.C.(Eds), **Ultrasound in Medicine**, 1ed, chapter 4, Bristol, England, IOP Publishing.

BBC, “physical education: the skeleton, bones and joints”, disponível em: [http://www.bbc.co.uk/schools/gcsebitesize/pe/appliedanatomy/2\\_anatomy\\_skeleton\\_rev4.shtml](http://www.bbc.co.uk/schools/gcsebitesize/pe/appliedanatomy/2_anatomy_skeleton_rev4.shtml). Acesso em 15/12/2010.

BJØRN, A. J. ANGELSEN, 2000, “Ultrasound imaging – waves, signals and signal Processing”, disponível em: <[www.ultrasoundbook.com](http://www.ultrasoundbook.com)>, acesso:06/12/2011.

BRIDAL S. L., FORNIÈS, P., BRUNIVAL, P. et al., 1997, “Parametric (integrated backscatter and attenuation) images constructed using backscattered radio frequency signals (25-56 MHz) from human aortae in vitro”, **Ultrasound Med. Biol.**, v. 23, no. 2, pp. 215-229.

BUCHOLZ R., JONES, A., 1991, "Fractures of the shaft of the femur", **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v. 73, no. 10, pp. 1561-66.

CARLO-STELLA, C., DI NICOLAA, M., MILANIB, R., et al., 2004, “Age- and irradiation-associated loss of bone marrow hematopoietic function in mice is reversed by recombinant human growth hormone”, **Exp. Hematol.**, v.32, n.2, pp.171–178.

CHAFFAI, S., PEYRIN, F., NUZZO, S., et al., 2002, “Ultrasonic characterization of human cancellous bone using transmission and backscatter measurements: relationships to density and microstructure”, **Bone**, v. 30, n. 1, pp. 229-237.

CHÉRIN, E., SAIED, A., LAUGIER, P., et al., 1998, “Evaluation of acoustical parameter sensitivity to age-related and osteoarthritic changes in articular cartilage using 50-MHz ultrasound,” **Ultrasound Med. Biol.**, v.24, no.3, pp. 341-354.

CORNEL, C.N., 2004, “Osteobiologics.”, **Bull Hosp Jt Dis**. V. 62, p. 7-13.

CYBERLOGIC® INC. “ Wave2000®plus – Softwave for Computational Ultrasonics”, Disponível em <<http://www.cyberlogic.org/wave2000plus.html>>, acesso: 20/01/2012.

DROZDZOWSKA, B., PLUSKIEWICZ, W., 2005, “Quantitative ultrasound in diagnosis of metabolic bone diseases”, **Curr. Med. Imaging Rev.**, v.1, n.1, pp. 67-74.

ERIKSON, K. R., FRY, F. J., JONES, J. P., 1974, “Ultrasound in medicine - a review”, **IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control**, v. 21, n. 3, pp.144-170.

FARAN, J. J., 1951, “Sound scattering by solid cylinders and spheres”, **J. Acoust. Soc. Am.**, v. 23, n. 4, pp. 405-418.

FEYNMAN, R. P., LEIGHTON, R. B., SANDS, M., 1963, **The Feynman Lectures on Physics**. 1 ed. Addison-Wesley Publishing Company.

FINDLAY, S. C., EASTELL, R., INGLE, B. M., 2002, “Measurement of bone adjacent to tibial shaft fracture”, **Osteoporosis Int.**, v.13, n.12, pp.980–989.

FISH, P., 1990, **Physics and instrumentation of diagnostic medical ultrasound**, 1.ed., New York, John Wiley & Sons.



FORTIN, M., BUSCHMANNA, M. D., BERTRANDA, M. J., et al., 2003, "Dynamic Measurement of internal solid displacement in articular cartilage using ultrasound Backscatter", **J. Biomech.**, v.36, n. 3, pp. 443–447.

FROST, M. L., BLAKE, G. M., FOGELMAN, I., 2001, "Quantitative ultrasound and bone mineral density are equally strongly associated with risk factors for osteoporosis." **J. Bone Miner. Res.**, V.16, n. 2, pp. 406-16.

GARCIA, T., HORNOF, W. J., INSANA, M. F., 2003, "On the ultrasonic properties of tendon", **Ultrasound Med. Biol.**, v. 29, n. 12, pp. 1787–1797.

GARTNER, L. P., HIATT, J. L., 2007, **Tratado de histologia em cores**. 3 ed. Elsevier.

GERTNER, M. R., WILSON, B. C., SHERAR, M. D., 1997, "Ultrasound properties of liver tissue during heating", **Ultrasound Med. Biol.**, v. 23, n. 9, pp. 1395-1103.

GIBSON, C. J., 2003, "Pathology of bone fractures". Disponível em: [www.uwo.ca/pathol/cases/skeletal/fracture.html](http://www.uwo.ca/pathol/cases/skeletal/fracture.html). Acesso em 21/06/2010.

GREGG, L. E. W., KRISKA, A. M., SALAMONE, L. M., ROBERTS, M. M., ANDERSON, S. J., FERRELL, R. E., 1997, "The epidemiology of quantitative ultrasound: a review of the relationships with bone mass, osteoporosis and fracture risk" **Osteoporosis International**, v. 7, pp. 89-99.

GUO, X., YANG, D., ZHANG, D., LI, W., QIU, Y., WU, J., 2009, "Quantitative evaluation of fracture healing process of long bones using guided ultrasound waves: a computational feasibility study," **The Journal of the Acoustical Society of America**, v. 125, no. 5, pp. 2834-7.

HAKULINEN, M. A., TÖYRÄS, J., SAARAKKALA, S., et al., 2004, "Ability of ultrasound backscattering to predict mechanical properties of bovine trabecular bone", **Ultrasound Med. Biol.**, v. 30, n. 7, pp. 919–927.

HEDRICK, W. R., HYKES, D. L., STARCHMAN, D. E., 1995, **Ultrasound physics and instrumentation**. 3<sup>a</sup> ed. Mosby.

HIJAZY, A., H. ALSMOUDI, M. SWEDAN, N. QADDOUM, H. ALNASHASH, K. RAMESH, 2006 "Quantitative monitoring of bone healing process using ultrasound," **Journal of the Franklin Institute**, v. 343, no. 4-5, pp. 495-500.

HOFFMEISTER, B. K., JOHNSON, D. P., JANESKI, J. A., et al., 2008, "Ultrasonic characterization of human cancellous bone in vitro using three different apparent backscatter parameters in the frequency range 0.6–15.0 MHz", **IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control.**, v. 55, n. 7, pp. 1442-1452.

HOFFMEISTER, B. K., JONES, C. I., CALDWELL, G.J., et al., 2006, "Ultrasonic characterization of cancellous bone using apparent integrated backscatter", **Phys. Med. Biol.**, v. 51, n. 11, pp. 2715–2727.

HOFFMEISTER, B. K., WHITTEN, S. A., KASTE, S. C., et al., 2002, "Effect of collagen and mineral content on the high frequency ultrasonic properties of human cancellous bone." **Osteoporosis Int.**, v. 13, n. 1, pp. 26–32.

INTERNATIONAL COMMISSION ON RADIATION UNITS AND MEASUREMENTS, 1998, **ICRU Report 61: Tissue Substitutes, Phantoms and Computational Modeling in Medical Ultrasound** (ICRU Publications, Bethesda, Maryland).

JACOBS, C. R., 2000, "The mechanobiology of cancellous bone structural adaptation", **J. Rehabil. Res. Dev.**, v. 37, n. 2, pp. 209-216.

JOSEPH, A. E., SAVERYMUTTU, S. H., AL-SAM, S., et al., 1991, "Comparison of liver histology with ultrasonography in assessing diffuse parenchymal liver disease", **Clin. Radiol.**, v. 43, n. 1, pp. 26–31.

JUNQUEIRA, L. C., CARNEIRO, J., 2004, **Histologia Básica**, 10.Ed., Rio De Janeiro, Guanabara Koogan.

KINSLER, L.E., FREY, A. R., 1982, **Fundamentals of acoustics**, 3.ed., New York, John Wiley & Sons.

KNAPP K. M, 2009, "Quantitative ultrasound and bone health," **Salud Pública de México**, v. 51 suppl 1, no. 1, pp. S18-24.

LAUGIER, P., DROIN, P., LAVAL-JEANTET, A. M., et al., 1997, "In vitro assessment of the relationship between acoustic properties and bone mass density of the calcaneus by comparison of ultrasound parametric imaging and quantitative computed tomography", **Bone**, v. 20, n. 2, pp. 157-165.

LEBERTRE, M., OSSANT, F., VAILLANT, L., et al., 2002, "Spatial variation of acoustic parameters in human skin: an in vitro study between 22 and 45 MHz", **Ultrasound Med. Biol.**, v. 28, n. 5, pp. 599–615.

LIN, W. L., CHIHNG, T. L., YUNG-Y. C., HWA, C. L. E MING, J.S., 2000, "Theoretical study of temperature elevation at muscle/bone interface during ultrasound hyperthermia", **Medical Physics**, v. 27, n. 5, pp. 1131-40.

LIRANI, A.P.R. "Estudos comparativos dos efeitos do ultra-som e do laser de baixa intensidade no reparo ósseo de tibia de rato". São Paulo, SP, Dissertação (mestrado em engenharia) - Universidade de São Paulo, USP, 2004.

LITTLER, T. S., KNIGHT, J. J., STRANGE, P. H., 1952, "Hearing by bone conduction and the use of bone-conduction hearing AIDS", **J. R. Soc. Med.**, v. 11, n. 45, pp.783-790.

MACHADO, C. B., PEREIRA, W. C. A., MEZIRI, M., et al., 2006, "Characterization of in vitro healthy and pathological human liver tissue periodicity using backscattered ultrasound signals", **Ultrasound Med. Biol.**, n. 5, v. 32, pp. 649-657.

MADSEN, E. L., DONG, F., FRANK, G. R., et al., 1999, “Interlaboratory comparison of ultrasonic backscatter, attenuation, and speed measurements”, **J. Ultrasound Med.**, v.18, n. 9, pp. 615–631.

MARKS SC, ODGREN PR., 1996, “Structure and development of the skeleton.” **In: Bilezikian Jp, Raisz Lg, Rodan Ga, Editors.** Principles of Bone Biology. San diego: Academic Press, pp. 3–4.

MATUSIN, D. P., PEREIRA, A. J. F., MACHADO, C. B., FERREIRA, M. L., SCHANAIDER, A., PEREIRA, W. C. A., 2010, “Caracterização ultrassônica in vivo de osso longo em modelo animal,” **In XXII Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica.** Minas gerais, br, pp. 627-630.

MATUSIN, D. P, C. B. MACHADO, M. L. FERREIRA, A. SCHANAIDER, W. C. A. PEREIRA, 2007, "Preliminary study of pseudoarthrosis ultrasonic characterization," **in Proc. IEEE International Ultrasonics Symposium**, Rome, it, pp. 2232-2235.

MATUSIN, D. P. “Estudo preliminar de caracterização ultrassônica da pseudoartrose”. Rio de Janeiro, RJ. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ, 2009.

MEZIRI, M., PEREIRA, W. C. A., ABDELWAHAB, A., ET al., 2005, “In vitro chronic hepatic disease characterization with a multiparametric ultrasonic approach” **Ultrasonics**, v. 43, n. 5, pp. 305-313.

MORAN, C. M., BUSH, N. L., BAMBER, J. C., 1995, “Ultrasonic propagation properties of excised human skin”, **Ultrasound Med. Biol.**, v. 71. N. 9, pp. 1177- 1190.

NJEH, C. F., KEARTON, J. R., HANS, D. et al., 1998, “the use of quantitative ultrasound to monitor fracture healing: a feasibility study using phantoms”, v. 20, n. 10, pp. 781-786.

PARKER, K. J., 1983, “Ultrasonic attenuation and absorption in liver tissue”, **Ultrasound Med. Biol.**, v. 9, n 4, pp. 363-369.

RHO J-Y, KUHN-SPEARING L, ZIOUPOS P., 1998, "Mechanical properties and the hierarchical structure of bone." **Med Eng Phys**, 20:92–102.

RIEKKINEN, O., HAKULINEN, M. A., LAMMI, M. J., et al., 2007, "Acoustic properties of trabecular bone - relationships to tissue composition", **Ultrasound Med. Biol.**, v. 33, n. 9, pp. 1438-1444.

ROBERJOT, V., BRIDAL, L. S., 1996, "Absolute backscatter coefficient over a wide range of frequencies in a tissue-mimicking phantom containing two populations of scatterers", **IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control**, v. 43, n. 5, pp. 970 - 978.

RODRÍGUEZ, F. L., RAYA, P. M., LUNA, J. D., et al., 2003, "Performance of quantitative ultrasound in the discrimination of prevalent osteoporotic fractures in a bone metabolic unit", **Bone**, v.32, n.5, pp. 571-578.

SIGELMANN, R. A., REID, J. M., 1973, "Analysis and measurement of ultrasound backscattering from an ensemble of scatterers excited by sine-wave bursts", **J. Acoust. Soc. Am.**, v.53, n. 5, pp. 1351-1355.

SIGELMANN, R. A., REID, J. M., 1973, "Analysis and measurement of ultrasound backscattering from an ensemble of scatterers excited by sine-wave bursts", **J. Acoust. Soc. Am.**, v.53, n. 5, pp. 1351-1355.

TER HAAR, G., 1987, "Basic physics of therapeutic ultrasound", **Physiotherapy**, v.73, n. 3, pp. 110-113.

WANG, X., BANK, R. A., TEKOPPELE, J. M., et al., 2001, "The role of collagen in determining bone mechanical properties", **J. Orthop. Res.**, v. 19, n. 6, pp.1021-1026.

WEAR, K. A., STUBER, A. P., REYNOLDS, J. C., 2000, "Relationships of ultrasonic backscatter with ultrasonic attenuation, sound speed and bone mineral density in human calcaneus", **Ultrasound Med. Biol.**, v. 26, n. 8, pp. 1311-1316.

WELLS PNT, **Biomedical Ultrasonics**, Academic Press, New York, 1977.

ZAGZEBSKI, J. A., LU, Z. F., YAO, L. X., 1993, "Quantitative ultrasound imaging: in vivo results in normal liver", **Ultrason. Imaging**, v. 15, n. 4, pp. 335-351.

## ANEXO I

### I. Publicações diretamente relacionadas à dissertação de mestrado

#### I.1 Trabalhos completos publicados em anais de congressos (nacionais e internacionais)

**PEREIRA, A. J. F.**; MATUSIN, D. P.; ROSA, P. T. C. R.; MACHADO, C. B.; FERREIRA, M. L.; SCHANAIDER, A.; KRUGER, M. A. V.; PEREIRA, W. C. A.. IN VIVO CHARACTERIZATION OF LONG-BONE IN ANIMAL MODEL BY TWO ULTRASONIC SCATTERING PARAMETERS: AIB AND FSAB. In: PAN AMERICAN HEALTH CARE EXCHANGES, 2011, Rio de Janeiro. PAN AMERICAN HEALTH CARE EXCHANGES, 2011.

**PEREIRA, A. J. F.**; COSTA, T. C. F. V.; SCHANAIDER, A.; KRUGER, M. A. V.; PEREIRA, W. C. A.. IN VIVO CHARACTERIZATION OF LONG-BONE IN ANIMAL MODEL BY ULTRASONIC REFLECTION PARAMETERS: IRC AND FSIR. In: PAN AMERICAN HEALTH CARE EXCHANGES, 2012, Miami. PAN AMERICAN HEALTH CARE EXCHANGES, 2012.

ROSA, P. T. C. R.; MATUSIN, D. P.; **PEREIRA, A. J. F.**; MACHADO, C. B.; PEREIRA, W. C. A.. EVALUATING PERIODICITY OF TRABECULAR BONE PHANTOMS USING ULTRASOUND SIGNALS. In: PAN AMERICAN HEALTH CARE EXCHANGES, 2011, Rio de Janeiro. PAN AMERICAN HEALTH CARE EXCHANGES, 2011.

**PEREIRA, A. J. F.**; MATUSIN, D. P.; OLIVEIRA, A. J. B.; PONTES, R. W. F.; KRUGER, M. A. V.; PEREIRA, W. C. A.. INSTRUMENTO PARA PRODUÇÃO DE FRATURA TRANSVERSA EM OSSOS LONGOS DE PEQUENOS ROEDORES. In: XXII Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica, 2010, Tiradentes. XXII Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica: Construindo a Biomedicina do Futuro, 2010. v. 1.

MATUSIN, D. P.; **PEREIRA, A. J. F.**; MACHADO, C. B.; FERREIRA, M. L.; SCHANAIDER, A.; PEREIRA, W. C. A.. CARACTERIZAÇÃO ULTRASSÔNICA IN VIVO DE OSSO LONGO EM MODELO ANIMAL. In: XXII Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica, 2010, Tiradentes. XXII Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica: Construindo a Biomedicina do Futuro, 2010. v. 1.

#### I.2 Resumos publicados em anais de congressos (nacionais e internacionais)

**PEREIRA, A. J. F.**; MATUSIN, D. P.; MACHADO, C. B.; FERREIRA, M. L.; SCHANAIDER, A.; PEREIRA, W. C. A.. COMPARISON OF IN VIVO AND IN VITRO LONG BONE ULTRASOUND CHARACTERIZATION IN ANIMAL MODEL. In: 16th International WCPT Congress, 2011, Amsterdam. Physiotherapy. Philadelphia, 2011. v. 97. p. 981-982.

MATUSIN, D. P.; **PEREIRA, A. J. F.**; MACHADO, C. B.; FERREIRA, M. L.; SCHANAIDER, A.; PEREIRA, W. C. A.. QUANTITATIVE ULTRASOUND IN VITRO TO DIFFERENTIATE NORMAL LONG BONE AND PSEUDOARTHROSIS BY REFLECTION COEFFICIENT IN ANIMAL MODEL. In: 16th International

WCPT Congress, 2011, Amsterdam. *Physiotherapy*. Philadelphia: Elsevier, 2011. v. 97. p. 985-986.

SPIESSBERGER, E. L.; **PEREIRA, A. J. F.**; MACHADO, C. B.; PEREIRA, W. C. A. . CARACTERIZAÇÃO DA DIÁFISE DO FEMUR ÍNTEGRO DE RATO WISTAR POR RETROESPALHAMENTO ULTRASSÔNICO. In: XXXIII Jornada Giulio Massarani de Iniciação Científica, Artística e Cultural, 2011, Rio de Janeiro. XXXIII Jornada Giulio Massarani de Iniciação Científica, Artística e Cultural, 2011.

**PEREIRA, A. J. F.**; TEIXEIRA, R. C.; NEGRAO, J. N. C.; PEREIRA, W. C. A.. Análise histológica do tecido ósseo fraturado após tratamento com ultrassom terapêutico. In: V Congresso Internacional de Fisioterapia, 2010, Fortaleza. V Congresso Internacional de Fisioterapia. São Paulo: Rev. bras. crescimento desenvolv. hum., 2010.



## ANEXO II

### Resultados

#### II.1 Teste *in vivo* (5 pontos) – I experimento.

Rato	Média AIB (dB)	Média FSAB (dB.MHz-1)	Média TSAB (dB.µs-1)	Média IRC (dB)	Média FSIR (dB.MHz-1)
1 direito	-45,86 ± 3,51	-0,59 ± 2,23	-1,73 ± 1,70	-34,19 ± 3,13	0,26 ± 2,06
1 esquerdo	-54,18 ± 0,95	-0,62 ± 1,94	-0,20 ± 1,80	-35,16 ± 2,31	0,85 ± 1,81
2 direito	-49,46 ± 12,65	-1,00 ± 1,43	-0,05 ± 2,78	-36,22 ± 2,06	0,32 ± 3,08
2 esquerdo	-45,91 ± 8,56	-0,26 ± 1,15	2,79 ± 2,16	-39,47 ± 2,27	0,44 ± 2,32
3 direito	-45,20 ± 2,16	-0,01 ± 1,49	-0,41 ± 1,42	-30,40 ± 2,63	-2,51 ± 1,81
3 esquerdo	-52,65 ± 1,84	-1,02 ± 2,76	-0,80 ± 1,36	-33,37 ± 1,23	1,11 ± 2,48
4 direito	-51,20 ± 4,66	0,29 ± 2,53	0,18 ± 1,94	-36,84 ± 3,56	1,18 ± 1,60
4 esquerdo	-52,65 ± 1,84	-1,02 ± 2,76	-0,80 ± 1,36	-33,37 ± 1,23	1,11 ± 2,48
5 direito	-61,93 ± 3,20	4,11 ± 2,69	-0,97 ± 1,05	-30,61 ± 2,89	-0,80 ± 1,63
5 esquerdo	-60,36 ± 9,16	-0,40 ± 1,64	1,33 ± 3,02	-35,94 ± 2,26	0,49 ± 1,52
6 direito	-60,13 ± 1,31	-0,94 ± 2,14	-0,97 ± 1,12	-31,39 ± 1,65	1,15 ± 0,70
6 esquerdo	-51,42 ± 1,99	1,48 ± 1,92	-2,33 ± 0,82	-30,41 ± 5,75	0,58 ± 5,12
7 direito	-47,78 ± 10,51	4,76 ± 4,10	0,36 ± 1,29	-38,93 ± 4,77	0,38 ± 3,50
7 esquerdo	-54,65 ± 3,05	-0,56 ± 1,74	0,21 ± 2,55	-32,77 ± 5,27	1,61 ± 1,77

## II.2 Teste *in vivo* (3 pontos) – I experimento

Rato	Média AIB (dB)	Média FSAB (dB.MHz <sup>-1</sup> )	Média TSAB (dB.μs <sup>-1</sup> )	Média IRC (dB)	Média FSIR (dB.MHz <sup>-1</sup> )
1 direito	-58,80 ± 0,68	2,01 ± 0,39	-1,14 ± 0,79	-18,79 ± 0,68	0,05 ± 0,39
1 esquerdo	-64,31 ± 0,42	-1,05 ± 0,13	-1,43 ± 0,89	-34,74 ± 1,20	0,86 ± 1,00
2 direito	-61,97 ± 0,44	1,15 ± 0,84	-0,91 ± 0,22	-30,18 ± 0,93	0,42 ± 1,01
2 esquerdo	-62,10 ± 1,20	0,17 ± 0,14	1,37 ± 0,97	-40,84 ± 1,06	-0,98 ± 0,59
3 direito	-50,47 ± 0,54	2,21 ± 0,71	-1,66 ± 0,24	-25,64 ± 1,56	-0,45 ± 0,22
3 esquerdo	-62,44 ± 0,80	-1,53 ± 1,47	-1,02 ± 0,35	-32,49 ± 0,36	0,47 ± 0,44
4 direito	-62,16 ± 0,67	0,23 ± 0,79	-1,01 ± 0,17	-34,40 ± 0,77	-0,89 ± 1,13
4 esquerdo	-62,44 ± 0,80	-1,53 ± 1,47	-1,02 ± 0,35	-32,49 ± 0,36	0,47 ± 0,44
5 direito	-64,64 ± 0,66	-1,26 ± 0,58	0,59 ± 0,16	-36,80 ± 0,68	-0,23 ± 0,60
5 esquerdo	-56,01 ± 1,54	0,05 ± 0,48	-0,80 ± 0,36	-34,46 ± 1,17	-0,56 ± 0,73
6 direito	-40,48 ± 3,71	-1,79 ± 0,27	7,38 ± 1,07	-32,91 ± 0,74	-0,63 ± 0,72
6 esquerdo	-62,71 ± 0,67	1,69 ± 0,42	-2,88 ± 0,45	-26,36 ± 1,62	1,27 ± 3,18
7 direito	-61,60 ± 2,00	-3,28 ± 1,31	1,43 ± 0,40	-35,56 ± 1,07	-0,37 ± 0,38
7 esquerdo	-62,71 ± 1,20	-1,72 ± 0,55	-1,49 ± 1,47	-35,72 ± 1,39	1,65 ± 0,90

### II.3 Teste *in vivo* (5 pontos) – II experimento

Rato	Média AIB (dB)	Média FSAB (dB.MHz <sup>-1</sup> )	Média TSAB (dB.μs <sup>-1</sup> )	Média IRC (dB)	Média FSIR (dB.MHz <sup>-1</sup> )
1 direito	-49,94 ± 1,68	0,67 ± 1,85	-1,13 ± 1,01	-37,66 ± 1,65	-0,10 ± 0,86
1 esquerdo	-42,66 ± 2,47	0,72 ± 3,26	-1,18 ± 0,74	-30,22 ± 2,98	6,89 ± 2,87
2 direito	-51,36 ± 0,90	-0,25 ± 2,35	-0,97 ± 0,82	-30,99 ± 2,92	0,47 ± 1,80
2 esquerdo	-41,55 ± 1,62	-1,42 ± 3,37	-1,58 ± 1,55	-33,95 ± 3,30	-1,03 ± 1,17
3 direito	-50,50 ± 3,02	2,07 ± 1,81	-1,81 ± 1,49	-38,37 ± 3,92	-0,20 ± 1,39
3 esquerdo	-41,42 ± 1,88	1,93 ± 2,59	-0,38 ± 1,74	-31,93 ± 6,02	-1,35 ± 3,53
4 direito	-52,85 ± 3,44	-0,65 ± 2,90	-1,03 ± 0,68	-44,34 ± 1,69	-1,02 ± 2,12
4 esquerdo	-52,23 ± 4,18	-0,50 ± 2,08	1,09 ± 2,72	-33,48 ± 9,59	1,27 ± 0,68
5 direito	-56,22 ± 2,84	0,37 ± 2,29	0,16 ± 0,61	-44,80 ± 3,36	-0,07 ± 1,20
5 esquerdo	-58,85 ± 1,80	-0,28 ± 3,10	-0,72 ± 1,65	-36,31 ± 2,52	-1,94 ± 2,01
6 direito	-57,47 ± 10,50	-1,49 ± 0,47	4,82 ± 4,29	-41,17 ± 2,55	0,60 ± 1,76
6 esquerdo	-40,56 ± 1,31	-1,63 ± 3,74	-0,74 ± 1,80	-38,58 ± 1,47	-0,02 ± 1,72
7 direito	-47,08 ± 6,60	1,41 ± 2,72	2,06 ± 0,95	-45,39 ± 2,33	0,52 ± 1,51
7 esquerdo	-57,01 ± 4,64	1,42 ± 3,33	-1,68 ± 1,18	-38,87 ± 4,57	2,64 ± 3,20

#### II.4 Teste *in vivo* (3 pontos) – II experimento

Rato	Média AIB (dB)	Média FSAB (dB.MHz <sup>-1</sup> )	Média TSAB (dB.μs <sup>-1</sup> )	Média IRC (dB)	Média FSIR (dB.MHz <sup>-1</sup> )
1 direito	-53,49 ± 1,80	-1,14 ± 0,37	-0,63 ± 1,06	-21,96 ± 0,44	-1,00 ± 0,83
1 esquerdo	-64,33 ± 0,76	-2,89 ± 1,33	-1,29 ± 0,25	-30,93 ± 1,20	0,94 ± 0,62
2 direito	-58,36 ± 2,76	-1,96 ± 0,51	1,79 ± 1,48	-25,83 ± 0,26	1,38 ± 0,25
2 esquerdo	-61,40 ± 0,69	-1,47 ± 1,82	-2,54 ± 0,54	-36,21 ± 0,12	2,92 ± 4,05
3 direito	-55,76 ± 0,67	-0,38 ± 0,62	0,52 ± 0,35	-32,28 ± 0,49	-2,58 ± 0,82
3 esquerdo	-62,53 ± 0,64	0,12 ± 0,91	-0,43 ± 0,44	-27,93 ± 3,29	-3,68 ± 1,46
4 direito	-64,20 ± 2,16	0,38 ± 1,45	-1,01 ± 0,97	-36,99 ± 1,86	2,14 ± 1,16
4 esquerdo	-61,16 ± 2,86	-0,13 ± 0,33	-0,71 ± 0,52	-30,18 ± 3,61	0,80 ± 0,22
5 direito	-64,00 ± 0,52	-1,86 ± 0,64	-1,51 ± 0,16	-32,32 ± 2,32	-1,93 ± 0,73
5 esquerdo	-60,03 ± 0,83	-0,58 ± 1,59	0,44 ± 0,32	-27,06 ± 0,40	-0,62 ± 1,11
6 direito	-60,94 ± 0,90	-0,70 ± 0,56	-1,60 ± 0,42	-31,42 ± 0,93	1,60 ± 0,22
6 esquerdo	-60,51 ± 0,56	-4,31 ± 1,01	-0,16 ± 0,17	-29,49 ± 0,67	0,97 ± 1,40
7 direito	-63,16 ± 1,49	-3,39 ± 0,29	-0,54 ± 0,49	-28,39 ± 1,59	2,73 ± 1,22
7 esquerdo	-59,52 ± 1,49	-1,54 ± 1,07	-1,04 ± 0,18	-27,12 ± 0,17	1,63 ± 0,18

## II.5 Teste *in vitro* (5 pontos) – I experimento

Rato	Média AIB (dB)	Média FSAB (dB.MHz <sup>-1</sup> )	Média TSAB (dB.μs <sup>-1</sup> )	Média IRC (dB)	Média FSIR (dB.MHz <sup>-1</sup> )
1 direito	-42,01 ± 0,22	-0,03 ± 0,03	-2,48 ± 3,22	-20,61 ± 0,37	-0,08 ± 0,02
1 esquerdo	-44,32 ± 2,41	1,80 ± 0,84	0,12 ± 0,52	-26,58 ± 0,59	0,91 ± 0,70
2 direito	-47,90 ± 1,93	-1,04 ± 1,65	-2,59 ± 1,33	-21,18 ± 9,69	0,33 ± 1,54
2 esquerdo	-42,11 ± 2,63	-2,55 ± 2,20	-3,33 ± 1,20	-25,02 ± 2,75	0,61 ± 0,63
3 direito	-43,44 ± 1,69	-0,88 ± 2,93	-3,65 ± 1,11	-28,81 ± 2,80	-0,34 ± 1,28
3 esquerdo	-46,98 ± 1,61	-1,95 ± 1,25	-1,74 ± 1,31	-24,03 ± 0,48	-3,83 ± 0,36
4 direito	-49,80 ± 3,05	0,29 ± 2,39	-0,27 ± 1,55	-29,09 ± 1,05	0,82 ± 0,26
4 esquerdo	-41,80 ± 0,43	-0,02 ± 0,02	-1,04 ± 1,14	-20,40 ± 0,25	-0,08 ± 0,01
5 direito	-48,45 ± 1,63	-0,86 ± 0,69	-1,41 ± 1,25	-29,53 ± 3,83	-0,31 ± 0,88
5 esquerdo	-43,79 ± 1,99	-2,72 ± 0,90	-0,99 ± 0,35	-25,48 ± 10,01	0,30 ± 2,88
6 direito	-41,36 ± 0,26	-0,23 ± 1,68	-5,32 ± 1,21	-22,55 ± 0,88	-1,42 ± 0,49
6 esquerdo	-50,58 ± 0,87	-1,38 ± 2,14	-1,93 ± 1,97	-12,70 ± 11,56	0,83 ± 1,76

## II.6 Teste *in vitro* (3 pontos) – I experimento

Rato	Média AIB (dB)	Média FSAB (dB.MHz <sup>-1</sup> )	Média TSAB (dB.μs <sup>-1</sup> )	Média IRC (dB)	Média FSIR (dB.MHz <sup>-1</sup> )
1 direito	-42,37 ± 0,04	-0,80 ± 0,03	-2,96 ± 1,32	-12,54 ± 0,42	-0,81 ± 0,04
1 esquerdo	-42,57 ± 0,19	-1,08 ± 0,05	-1,12 ± 0,26	-6,57 ± 0,14	-1,30 ± 0,12
2 direito	-49,16 ± 1,18	-2,19 ± 0,48	-2,73 ± 0,47	-5,85 ± 1,52	0,67 ± 0,09
2 esquerdo	-42,08 ± 1,04	-3,99 ± 1,21	-2,57 ± 0,18	-3,90 ± 0,17	0,96 ± 0,10
3 direito	-43,42 ± 0,90	-1,30 ± 1,53	-2,87 ± 0,40	-6,77 ± 0,06	-1,25 ± 0,25
3 esquerdo	-45,91 ± 0,77	-1,96 ± 0,05	-2,68 ± 0,17	-14,16 ± 0,11	-3,65 ± 0,01
4 direito	-47,80 ± 1,55	1,80 ± 1,60	-1,35 ± 0,20	-8,40 ± 0,40	0,98 ± 0,17
4 esquerdo	-41,52 ± 0,18	-1,02 ± 0,01	-1,69 ± 0,30	-9,57 ± 0,13	-1,08 ± 0,01
5 direito	-41,40 ± 0,06	0,95 ± 0,65	-6,17 ± 0,49	-12,63 ± 0,14	-1,66 ± 0,07
5 esquerdo	-43,52 ± 0,42	-3,31 ± 0,41	-0,96 ± 0,20	-8,52 ± 2,60	-0,23 ± 0,69
6 direito	-48,21 ± 0,64	-0,39 ± 0,36	-0,52 ± 0,28	-12,20 ± 1,29	-0,92 ± 0,24
6 esquerdo	-50,77 ± 0,17	-2,78 ± 0,78	-2,00 ± 0,09	-6,77 ± 1,14	1,47 ± 0,24

### II.7 Teste *in vitro* (5 pontos) – II experimento

Rato	Média AIB (dB)	Média FSAB (dB.MHz <sup>-1</sup> )	Média TSAB (dB.μs <sup>-1</sup> )	Média IRC (dB)	Média FSIR (dB.MHz <sup>-1</sup> )
1 direito	-44,20 ± 2,61	-1,21 ± 1,53	-0,27 ± 1,11	-23,75 ± 1,33	3,01 ± 0,94
1 esquerdo	-38,43 ± 1,45	1,08 ± 2,23	-2,64 ± 1,81	-25,97 ± 0,33	-0,06 ± 0,59
2 direito	-37,33 ± 1,12	0,22 ± 1,77	-1,24 ± 1,57	-29,15 ± 2,43	-0,44 ± 1,06
2 esquerdo	-39,77 ± 2,00	2,09 ± 1,56	-1,08 ± 1,20	-27,68 ± 1,90	0,55 ± 1,17
3 direito	-42,79 ± 1,74	-0,07 ± 1,24	-2,46 ± 0,84	-28,57 ± 1,80	0,36 ± 1,33
3 esquerdo	-48,29 ± 2,86	-1,23 ± 0,89	-0,47 ± 0,75	-22,40 ± 1,29	-0,94 ± 0,95
4 direito	-41,37 ± 1,21	-0,87 ± 1,46	-1,05 ± 0,70	-30,93 ± 1,27	3,10 ± 1,84
4 esquerdo	-42,00 ± 2,58	0,33 ± 1,21	-0,22 ± 1,54	-20,63 ± 2,36	2,75 ± 0,64
5 direito	-38,74 ± 1,50	-0,01 ± 1,48	-1,50 ± 1,59	-31,96 ± 4,23	-2,07 ± 2,65
5 esquerdo	-46,75 ± 0,49	2,21 ± 0,69	-4,25 ± 1,37	-25,62 ± 0,46	0,96 ± 0,52
6 direito	-45,12 ± 1,87	-1,71 ± 1,21	0,11 ± 0,81	-22,89 ± 3,21	3,40 ± 0,44
6 esquerdo	-38,94 ± 1,02	0,18 ± 1,12	-3,23 ± 1,45	-25,84 ± 0,18	0,14 ± 0,44

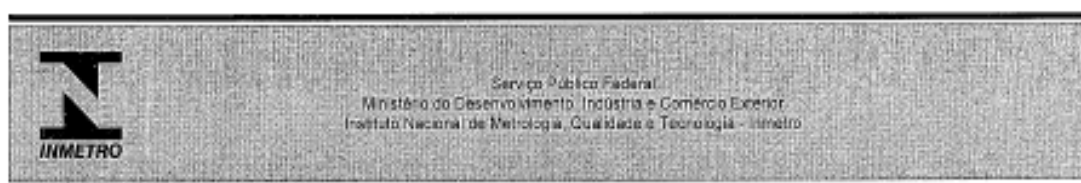
## II.8 Teste *in vitro* (3 pontos) – II experimento

Rato	Média AIB (dB)	Média FSAB (dB.MHz <sup>-1</sup> )	Média TSAB (dB.μs <sup>-1</sup> )	Média IRC (dB)	Média FSIR (dB.MHz <sup>-1</sup> )
1 direito	-45,91 ± 1,23	-2,10 ± 1,15	0,40 ± 0,68	-4,45 ± 0,93	-0,22 ± 0,31
1 esquerdo	-38,44 ± 0,23	-0,34 ± 0,49	-3,94 ± 0,31	-5,76 ± 0,11	0,31 ± 0,34
2 direito	-38,11 ± 0,36	1,44 ± 0,76	-0,25 ± 0,48	-7,43 ± 0,83	-0,35 ± 0,51
2 esquerdo	-41,18 ± 0,49	-3,04 ± 0,97	-1,08 ± 0,90	-7,33 ± 0,62	1,38 ± 0,25
3 direito	-41,54 ± 0,46	0,70 ± 0,22	-2,53 ± 0,64	-6,24 ± 1,24	0,36 ± 0,55
3 esquerdo	-47,65 ± 1,14	-1,64 ± 0,39	-0,36 ± 0,30	-9,56 ± 0,61	-0,29 ± 0,23
4 direito	-41,67 ± 0,46	1,78 ± 0,26	-1,45 ± 0,12	-11,76 ± 0,79	-0,35 ± 0,40
4 esquerdo	-42,00 ± 1,66	-4,05 ± 0,26	0,76 ± 0,39	-2,18 ± 1,31	2,37 ± 0,49
5 direito	-37,71 ± 0,61	1,05 ± 0,64	-2,53 ± 0,78	-14,81 ± 2,22	-2,24 ± 1,39
5 esquerdo	-46,76 ± 0,43	2,21 ± 0,32	-4,26 ± 0,49	-5,55 ± 0,03	-0,83 ± 0,09
6 direito	-40,17 ± 1,02	-1,10 ± 1,00	0,90 ± 0,08	-9,49 ± 0,03	3,31 ± 0,45
6 esquerdo	-47,23 ± 0,22	-0,96 ± 0,50	-1,40 ± 0,23	-9,78 ± 0,02	2,34 ± 0,65



## ANEXO III

### Carta de calibração



# Relatório de Ensaio

**DIMCI 2427/2011**

Número do Relatório

#### Cliente

**Nome:** Programa de Engenharia Biomédica / COPPE / UFRJ

**Endereço:** Universidade Federal do Rio de Janeiro, Av. Horácio Macedo 2030, CEP 21941-914, Prédio do Centro de Tecnologia, COPPE/UFRJ, Bloco H, Sala 327, Cidade Universitária.

#### Identificação do Item

**Item:** Transdutor de ultrassom

**Fabricante:** Panametrics

**Modelo/Tipo:** V326 – 5 MHz

**Número de Série:** 605824

**Código de Identificação:** Não identificado

#### Informações Administrativas

**Processo Inmetro:** 054536/2011

**Data do Ensaio:** 17/10/2011

**Laboratório Responsável:** Laboratório de Ultrassom (Labus)

**Local de Realização:** Rua Nossa Senhora das Graças, 50 – Xerém – Duque de Caxias – RJ – CEP 25250-020

17/01/2012

**Data de Emissão**

**Chefe da Divisão de Metrologia Acústica e Vibrações**

Verificar somente com a charcoada

O presente relatório de ensaio atende aos requisitos da norma NBR ISO/IEC 17025 e é válido apenas para o instrumento de medição/padrão acima caracterizado, não sendo extensivo a quaisquer outros instrumentos de medição, ainda que similares. Este relatório de ensaio somente pode ser reproduzido em sua forma integral; reproduções parciais devem ser previamente autorizadas pelo Inmetro.

Inmetro – Av. Nossa Senhora das Graças, 50 – Xerém, Duque de Caxias, RJ, Brasil, CEP: 25250-020  
São Paulo – Tel: (21) 2679-9677/9210 – e-mail: xamr@inmetro.gov.br

(Pág. 1/3)

## Características do Item

Transdutor de ultrassom na frequência nominal de 5 MHz ( $\varnothing = 9,5$  mm).

## Informações Pertinentes ao Ensaio

Os resultados do ensaio são rastreados ao Sistema Internacional de Unidades (SI) por intermédio de padrões metrológicos nacionais.

Condições ambientais:

- Temperatura da sala: entre 22,4 °C e 23,9 °C
- Temperatura da água: entre 20,8 °C e 21,2 °C

Parâmetros avaliados:

- Área de radiação eficaz ( $A_{ER}$ )
- Distância focal ( $F_D$ )
- Comprimento da zona focal ( $F_L$ )
- Posições no eixo do feixe anterior ( $Z_{L1}$ ) e posterior ( $Z_{L2}$ ) à  $F_D$  onde a pressão é reduzida em 3 dB
- Largura focal nas direções X ( $W_{x1}$ ) e Y ( $W_{y1}$ ) na distância  $F_D$
- Largura focal nas direções X ( $W_{x2}$ ) e Y ( $W_{y2}$ ) na distância  $Z_{L2}$
- Ângulos de divergência do feixe nas direções X ( $\Omega_x$ ) e Y ( $\Omega_y$ )

## Procedimento de Medição

A avaliação do transdutor de ultrassom foi realizada com base nas NIT-LABUS-003 - Ensaio de transdutores de ultrassom para avaliação da área de radiação efetiva ( $A_{ER}$ ) e razão de não uniformidade do feixe ( $R_{NU}$ ) e NIT-LABUS-004 - Ensaio para determinação dos parâmetros do feixe de transdutores ultrassônicos de imersão, não focalizados, utilizados em ensaios não destrutivos (END).

As normas empregadas nas NIT-LABUS-003 e NIT-LABUS-004 são, respectivamente, a IEC 61689:2007 Ultrasonics – Physiotherapy systems – Field specifications and methods of measurement in the frequency range 0,5 MHz to 5 MHz e o item 7.7 Beam parameters for immersion probes, da norma EN 12668-2:2001 – Non Destructive Testing – Characterization and Verification of Ultrasonic Examination Equipment – Part 2: Probes.

O procedimento para a realização de cada mapeamento iniciou-se com o alinhamento entre o transdutor sob ensaio e o hidrofone utilizado na aquisição do sinal. Após o alinhamento, os transdutores foram mapeados ao longo do eixo do feixe usando-se um passo de 1 mm para determinação da posição  $F_D$ . Em seguida, foram mapeados sobre os eixos X e Y, com passo de 0,1 mm ou 0,05 mm (vide Tabelas de resultados) com dimensão de 20 mm, em duas posições específicas:  $F_D$  e  $Z_{L2}$ . Todo este procedimento foi repetido 4 vezes e os valores médios dos parâmetros determinados. O mapeamento foi realizado com hidrofone de agulha de PVDF de 0,5 mm de diâmetro, escolhido de acordo com critérios estabelecidos na norma empregada. Na determinação da incerteza foram consideradas as dispersões dos resultados em função da repetitividade e dos instrumentos e padrões utilizados.



## Relatório de Ensaio

**DIMCI 2427/2011**

Número do Relatório

Para determinação da  $A_{ER}$ , realizou-se o mapeamento no plano paralelo à face do transdutor a uma distância de 0,3 cm. Este mapeamento foi realizado com passos de 1 mm, com hidrofone de agulha de PVDF de 0,5 mm de diâmetro. Este procedimento foi repetido 4 vezes, e o resultado final da  $A_{ER}$  é determinado a partir da média dos valores obtidos em cada uma das repetições. Na determinação da incerteza foram consideradas as dispersões dos resultados em função da repetitividade e dos instrumentos e padrões utilizados.

### Resultados e Declaração da Incerteza de Medição

Os resultados do ensaio são apresentados nas Tabelas abaixo, onde a incerteza expandida da medição é declarada como a incerteza padrão combinada, multiplicada pelo fator de abrangência (vide Tabelas), o qual corresponde a uma probabilidade de abrangência superior a 95%. A incerteza expandida da medição foi determinada de acordo com o documento *Evaluation of measurement data – Guide to the expression of uncertainty in measurement - JCGM 100:2008*.

Tabela 1. Valores dos parâmetros avaliados, e seus respectivos valores de incerteza expandida, para o transdutor panametrics, modelo V326, número de série 605824, 5 MHz e 9,5 mm de diâmetro.

Parâmetro	Unidade	Resultado	Incerteza Expandida	Incerteza Expandida [%]	Fator de Abrangência
$A_{ER}$	[cm <sup>2</sup> ]	0,694	0,042	6,1	2,00
$F_D$	[mm]	69,3	1,4	2,0	2,36
$F_L$	[mm]	84,25	0,97	1,2	2,01
$W_{r1}$	[mm]	2,16	0,11	5,1	2,45
$W_{r1}$	[mm]	2,163	0,070	3,2	2,20
$W_{r2}$	[mm]	4,138	0,070	1,7	2,20
$W_{r3}$	[mm]	4,113	0,049	1,2	2,01
$\Omega_s$	[°]	0,916	0,034	3,7	1,99
$\Omega_s$	[°]	0,905	0,033	3,6	2,00

  
André Victor Alvarenga  
Técnico Executor

  
Rodrigo Pereira Barretto da Costa-Félix  
Chefe do Laboratório de Ultrassom