

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE FILOSOFIA, LETRAS E CIÊNCIAS HUMANAS

DEPARTAMENTO DE FÍSICA

PROGRAMA DE FÍSICA APLICADA À MEDICINA E BIOLOGIA

Implementação de uma técnica de caracterização de tecidos biológicos baseada na emissão acústica em baixa frequência (kHz) de alvos excitados em alta frequência (MHz).

GUILHERME DE ARAÚJO BRAZ

Ribeirão Preto - São Paulo

2020

GUILHERME DE ARAÚJO BRAZ

Implementação de uma técnica de caracterização de tecidos biológicos baseada na emissão acústica em baixa frequência (kHz) de alvos excitados em alta frequência (MHz).

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Física Aplicada a Medicina e Biologia do Departamento de Física da Faculdade de Filosofia, Letras e Ciências Humanas, da Universidade de São Paulo, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ciências, Área: Física Aplicada à Medicina e Biologia.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Adilton Oliveira Carneiro

Co-orientador: Prof. Dr. George Cunha Cardoso

Ribeirão Preto - São Paulo

2020

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Braz, Guilherme de Araújo

Implementação de uma técnica de caracterização de tecidos biológicos baseada na emissão acústica em baixa frequência (kHz) de alvos excitados em alta frequência (MHz). / Guilherme de Araújo Braz; Orientador Prof. Dr. Antonio Adilton Oliveira Carneiro. Ribeirão Preto – SP 2020.

82 f.:il.

Tese (Doutorado – Programa de Pós-graduação em Física Aplicada à Medicina e Biologia) – Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 2020,

1. Ultrassom; 2. Força de Radiação Acústica; 3. Propriedades de tecidos biológicos; 4. Caracterização de tecidos; 5. Osteoporose; 6. Elastografia.

Nome: Braz, Guilherme de Araújo

Título: Implementação de uma técnica de caracterização de tecidos biológicos baseada na emissão acústica em baixa frequência (kHz) de alvos excitados em alta frequência (MHz).

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Física Aplicada à Medicina e Biologia da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo como parte das exigências para a obtenção do título de doutor em ciências.

Aprovado em: ___/___/___.

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____
Julgamento _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____
Julgamento _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____
Julgamento _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____
Julgamento _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____
Julgamento _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____
Julgamento _____ Assinatura: _____

Dedico esse trabalho à minha família, meu pai Vanderlei, minha mãe Rosângela e meu irmão Giovanni, por me permitirem e me provocarem a sonhar cada vez mais alto.

Agradecimentos

Começo agradecendo pelas inúmeras oportunidades e pelo apoio que recebi do meu orientador e amigo, Prof. Dr. Antônio A. O. Carneiro e meu co-orientador Prof. Dr. George C. Cardoso.

Agradeço a oportunidade e o incentivo dados pela chefia e coordenação da pós-graduação do Departamento de Física que foram dirigidos com muita competência pelos Prof. Dr. Marcelo Mulato, Prof. Dr. Antonio J. da Costa Filho e Profa. Dra. Patrícia Nicolucci.

Agradeço ao Prof. Dr. André Luiz Baggio cujo trabalho de doutorado deixou a base na qual esta tese se sustenta. Agradeço também ao Dr. Hermes A. S. Kamimura e ao Prof. Dr. Theo z. Pavan que tiveram a paciência de me receber, ainda nos primeiros anos dentro de um laboratório, e dividir parte do grande conhecimento que possuem.

Meus agradecimentos ao Prof. Dr. Marcello Henrique Nogueira-Barbosa e ao MD. Paulo M. Agnolitto pela parceria que começou com os experimentos envolvendo osteoporose e se estenderam para todo o trabalho.

Agradeço aos técnicos do Departamento de Física, cujo trabalho não apenas viabiliza a realização dos projetos como também os enriquece. Um agradecimento especial ao S. B. Neto pelo auxílio diário na realização dos experimentos e à Nilza M. L. Marino pelo auxílio nas tarefas e deveres administrativos.

Agradeço a todos companheiros do Grupo de Inovação em Instrumentação Médica e Ultrassom (GIIMUS). Em especial não posso deixar de citar: João H. Ulliana, Felipe W. Grillo e Diego R. T. Sampaio pelas discussões científicas ou não que me ajudaram a construir os conhecimentos necessários para a realização deste trabalho

Resumo

Braz G.A. **Implementação de uma técnica de caracterização de tecidos biológicos baseada na emissão acústica em baixa frequência (kHz) de alvos excitados em alta frequência (MHz)**. 2020. 87f. Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Física Aplicada à medicina e Biologia) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto – SP, 2020.

As propriedades mecânicas de tecidos moles podem estar relacionadas a diversos processos patológicos. Técnicas ultrassônicas têm sido exploradas como uma alternativa não invasiva para caracterizar tais tecidos. No entanto, as metodologias existentes requerem o uso de sistemas de frequência variável, frequência dupla e alta potência. Aqui, propomos demonstrar o uso de pulsos de radiação acústica de megahertz para observar respostas mecânicas em quilohertz de tecidos biológicos. Ossos fêmures foram retirados de dez camundongos saudáveis e de outros dez camundongos nos quais a osteoporose havia sido induzida. A porosidade do osso, número trabecular, espaçamento trabecular, conectividade e densidade de conectividade foram determinadas usando micro-CT. As amostras foram irradiadas com pulsos curtos de radiação acústica focalizada ($f = 3,1$ MHz, $t = 15$ μ s) e a resposta acústica de baixa frequência (1 kHz - 80 kHz) foi adquirida usando um hidrofone dedicado. Foi encontrada

uma forte correlação entre os mapas espectrais dos sinais adquiridos e os dados do micro-CT. Em um teste adicional, foram realizadas simulações do mapeamento da rigidez de tecidos moles com um simulador de parafina gel contendo três inclusões esféricas com diferentes densidades, módulos de Young e aproximadamente a mesma ecogenicidade. O ultrassom convencional do modo-B não conseguiu visualizar as inclusões, enquanto a nova técnica aqui proposta mostrou um bom contraste da imagem na identificação das inclusões com diferentes rigidezes.

Palavras-chave: 1. Ultrassom; 2. Força de Radiação Acústica; 3. Propriedades de tecidos biológicos; 4. Caracterização de tecidos; 5. Osteoporose; 6. Elastografia.

Abstract

Braz G.A. **Characterization of biological tissues using low frequency acoustic radiation in response to a high frequency focused ultrasound pulse.** 2020. 87f. Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Física Aplicada à medicina e Biologia) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto – SP, 2020.

The mechanical properties of biological tissues are fingerprints of some pathological processes. Ultrasound systems have been used as a non-invasive technique to both induce kilohertz mechanical vibrations and to detect the resulting waves after interaction with the biological structures. However, existing methodologies to produce kilohertz mechanical vibrations using ultrasound require the use of variable-frequency, dual-frequency and high-power systems. Here, we propose and demonstrate the use of bursts of megahertz acoustic radiation to observe kilohertz mechanical responses of biological tissues. Femoral bones were excised from ten healthy mice and from another ten mice where osteoporosis had been induced. The bone's porosity, trabecular number, trabecular spacing, connectivity, and connectivity density were determined using micro-CT. The samples were irradiated with short, focused acoustic radiation pulses ($f = 3.1$ MHz, $t = 15$ μ s), and the low-frequency acoustic response (1 kHz - 80 kHz)

was acquired using a dedicated hydrophone. A strong correlation between spectral maps of the acquired signals and the micro-CT data was found. In a further test, soft tissue stiffness measurement simulations were performed with a gel wax phantom containing three spherical inclusions of the same type of gel but different densities, different Young moduli, and approximately same echogenicity. Conventional B-mode ultrasound was unable to image the inclusions, while the novel technique here proposed showed good image contrast to identify inclusions with different stiffness.

Key-words: 1. Ultrasound; 2. Acoustic Radiation force; 3. Mechanical properties; 4 Tissue characterization; 5. Osteoporosis; 6. Elastography.

Lista de Figuras

FIGURA 1-1: ESQUEMÁTICO DA ORGANIZAÇÃO DA TESE.	7
FIGURA 2-1: ESQUEMA DA ELASTOGRAFIA QUASE-ESTÁTICA MOSTRANDO O SINAL DE RADIOFREQUÊNCIA (RF) ANTES (A) E APÓS (B) A COMPRESSÃO MANUAL E A IMAGEM DE DEFORMAÇÃO (C). NOTE QUE O SINAL RF NA REGIÃO CIRCULAR NÃO SE ALTERA APÓS A COMPRESSÃO, O QUE INDICA MENOR DEFORMAÇÃO (ADAPTADO DE KONOYAGOU ET AL., 2003). ...	8
FIGURA 3-1: ARRANJO EXPERIMENTAL PARA FORMAÇÃO DE IMAGENS POR APE: UM GERADOR DE FUNÇÕES CRIA UM PADRÃO DE SINAL NO MODO BURST QUE É AMPLIFICADO DE MODO A ENERGIZAR O TRANSDUTOR ULTRASSÔNICO. COM UM SISTEMA DE RASTREIO 3-D, O FOCO DO TRANSDUTOR É POSICIONADO EM DIFERENTES PONTOS DA AMOSTRA. PARA CADA PONTO O SINAL ACÚSTICO É DETECTADO PELO HIDROFONE E PROCESSADO.	22
FIGURA 3-2: SISTEMA PULSE/RECEIVER UTILIZADO PARA O POSICIONAMENTO DA AMOSTRA NO FOCO DO TRANSDUTOR.	23
FIGURA 3-3: FORMA DE ONDA DE EXCITAÇÃO ENVIADA AO GERADOR DE FUNÇÕES. ESTA FORMA DE ONDA FOI UTILIZADA COM O INTUITO DE DIMINUIR O RUÍDO GERADO PELOS TRANSIENTES QUE OCORREM QUANDO O TRANSDUTOR ULTRASSÔNICO É ENERGIZADO.	24
FIGURA 3-4: ESQUEMA REPRESENTANDO O TRANSDUTOR UTILIZADO NOS EXPERIMENTOS DE APE. CONSISTE DE UMA CERÂMICA PIEZOELÉTRICA PRODUZIDA A PARTIR DE UM DISCO DE PZT 4 DE FORMATO SEMIESFÉRICO COM DIÂMETRO DE 40,0 MM, COM UM FOCO A 50 MM DE COMPRIMENTO E FREQUÊNCIA DE RESSONÂNCIA f_r 3,16 MHz.	25
FIGURA 3-5: FOTO DO TRANSDUTOR ULTRASSÔNICO FOCALIZADO UTILIZADO NOS EXPERIMENTOS DE APE. ESTE TRANSDUTOR FOI DESENVOLVIDO NO PRÓPRIO LABORATÓRIO A PARTIR DE UM DISCO DE PZT 4 DE FORMATO SEMIESFÉRICO COM DIÂMETRO DE 40,0 MM, COM UM FOCO A 50 MM DE COMPRIMENTO E FREQUÊNCIA DE RESSONÂNCIA f_r 3,16 MHz.	26
FIGURA 3-6: FOTO DO HIDROFONE MODELO ITC 6050C UTILIZADO NOS EXPERIMENTOS AO LADO DE UMA CÉDULA DE DÓLAR PARA COMPARAÇÃO DE DIMENSÕES.	27

FIGURA 3-7: DISPOSIÇÃO DO HIDROFONE EM RELAÇÃO AO TRANSDUTOR ULTRASSÔNICO. O HIDROFONE FOI COLOCADO AO REDOR DO TRANSDUTOR ULTRASSÔNICO ADOTANDO COMO PADRÃO AS COORDENADAS POLARES ONDE R É A DISTÂNCIA ENTRE O HIDROFONE E A CERÂMICA E Θ É O ÂNGULO ENTRE O HIDROFONE E O EIXO AXIAL DO TRANSDUTOR DE ULTRASSOM FOCALIZADO.....	28
FIGURA 3-8: DIAGRAMA CONTENDO OS PASSOS PARA AQUISIÇÃO E PROCESSAMENTO DOS SINAIS ADQUIRIDOS COM A TÉCNICA APE.....	31
FIGURA 3-9: PLANO UTILIZADO NA REALIZAÇÃO DE IMAGENS.....	31
FIGURA 4-1: ESQUEMA DO ELEMENTO SENSOR DO HIDROFONE DE AGULHA.....	33
FIGURA 4-2: RESPOSTA EM FREQUÊNCIA DO TRANSDUTOR ULTRASSÔNICO UTILIZADO NOS EXPERIMENTOS. A FREQUÊNCIA DE RESSONÂNCIA ENCONTRADA FOI DE 3,16 MHz E LARGURA DE BANDA PERCENTUAL DE 7,6% (3,04-3,28 MHz).....	35
FIGURA 4-3: (A) IMAGEM OBTIDA POR VARREDURA DO PERFIL AXIAL DO FOCO DO TRANSDUTOR DE ULTRASSOM. (B) IMAGEM OBTIDA POR VARREDURA DO PERFIL LATERAL DO FOCO DO TRANSDUTOR DE ULTRASSOM. AS IMAGENS FORAM FEITAS COM PASSOS DE 0,25 MM NAS DUAS DIREÇÕES.....	36
FIGURA 4-4: (A) PERFIL AXIAL DO FOCO DO TRANSDUTOR. (B) PERFIL LATERAL DO FOCO DO TRANSDUTOR.....	36
FIGURA 4-5: FOTOGRAFIAS DA BALANÇA ACÚSTICA UTILIZADA NOS EXPERIMENTOS DE MEDIÇÃO DA POTÊNCIA ACÚSTICA DO SISTEMA UTILIZADO.....	38
FIGURA 4-6: ARRANJO EXPERIMENTAL UTILIZADO PARA AS MEDIDAS DE POTÊNCIA ACÚSTICA FORNECIDA PELO SISTEMA. UTILIZOU-SE UMA BALANÇA ACÚSTICA CALIBRADA PARA CONVERTER OS VALORES DE MASSA MEDIDOS EM VALORES DE POTÊNCIA.....	38
FIGURA 4-7: RELAÇÃO ENTRE A POTÊNCIA DO FEIXE ACÚSTICO EM FUNÇÃO DA AMPLITUDE DE VOLTAGEM DE EXCITAÇÃO DO SISTEMA. O PERFIL DA POTÊNCIA EM FUNÇÃO DA TENSÃO É QUADRÁTICO COMO O ESPERADO DA POTÊNCIA ACÚSTICA QUE É PROPORCIONAL AO QUADRADO DA INTENSIDADE QUE POR SUA VEZ É LINEARMENTE DEPENDENTE DA TENSÃO APLICADA NO TRANSDUTOR ULTRASSÔNICO.....	39
FIGURA 4-8: VOLTAGEM DE SAÍDA DO TRANSDUTOR EM FUNÇÃO DA FREQUÊNCIA PARA UMA PRESSÃO CONSTANTE DE 1 Pa (FORNECIDO PELO FABRICANTE).....	40
FIGURA 4-9: FOTOGRAFIA DO EXPERIMENTO DE VERIFICAÇÃO DO CONTRASTE EM FUNÇÃO DA DURAÇÃO DO PULSO DE EXCITAÇÃO.....	42
FIGURA 4-10: RESULTADO DA SUBTRAÇÃO DOS ESPECTROS DOS SINAIS COM E SEM A ESFERA NO FOCO PARA CADA FREQUÊNCIA IDENTIFICADA NO ESPECTRO EM FUNÇÃO DA DURAÇÃO DO PULSO DE EXCITAÇÃO.....	43

FIGURA 4-11: PERFIL DE DECAIMENTO DE AMPLITUDE PICO A PICO DO SINAL APE NA FREQUÊNCIA DE 52KHZ PARA DIFERENTES DISTANCIAS ENTRE A ESFERA E O HIDROFONE. A CURVA EM VERMELHO REPRESENTA UM AJUSTE DOS DADOS EXPERIMENTAIS PARA UMA FUNÇÃO DO TIPO $\ln r/r$.	44
FIGURA 4-12: ESQUEMA DO POSICIONAMENTO DO HIDROFONE EM RELAÇÃO À AMOSTRA E O TRANSDUTOR DE EXCITAÇÃO.	46
FIGURA 4-13: APARATO EXPERIMENTAL UTILIZADO NO EXPERIMENTO DE SINAL EM FUNÇÃO DO ÂNGULO DE POSICIONAMENTO DO HIDROFONE. NELA PODE-SE VER QUE O SUPORTE QUE SUSTENTAVA O HIDROFONE POSSUÍA UM GONIÔMETRO CAPAZ DE CONTROLAR A ANULAÇÃO EM RELAÇÃO À AMOSTRA E O TRANSDUTOR ULTRASSÔNICO.	46
FIGURA 4-14: RESULTADOS OBTIDOS DE CONTRASTE EM FUNÇÃO DO ÂNGULO DE AQUISIÇÃO EM UM GRÁFICO EM COORDENADAS POLARES.	47
FIGURA 4-15: ESQUEMA REPRESENTANDO O APARATO EXPERIMENTAL UTILIZADO PARA SE DETERMINAR A RESOLUÇÃO LATERAL DA APE.. UMA AQUISIÇÃO DE SINAL FOI FEITA A CADA 12,5 μ M AO LONGO DE 1 MM NA DIREÇÃO X.	48
FIGURA 4-16: PERFIL TRANSVERSAL DE CADA UM DOS FIOS ANALISADOS. (A) CORRESPONDE AO PERFIL TRANSVERSAL DO FIO DE 0,57 MM. (B) CORRESPONDE AO PERFIL TRANSVERSAL DO FIO DE 0,42 MM. (C) CORRESPONDE AO PERFIL TRANSVERSAL DO FIO DE 0,25 MM. (D) CORRESPONDE AO PERFIL TRANSVERSAL DO FIO DE 0,14 MM.	49
FIGURA 5-1: MORFOLOGIA DO PHANTOM E DISTRIBUIÇÃO DAS INCLUSÕES. O CORPO DO PHANTOM E AS INCLUSÕES FORAM FEITOS DE PARAFINA GEL COM DIFERENTES RIGIDEZES. AS INCLUSÕES 1, 2 E 3 POSSUEM MÓDULO DE YOUNG DE 98 KPA, 27 KPA E 18 KPA, RESPECTIVAMENTE.	55
FIGURA 5-2: TEXTURÔMETRO TA.XT PLUS (MODELO STABLE MICRO SYSTEMS, UK) UTILIZADO NOS ENSAIOS DE COMPRESSÃO, A PROBE UTILIZADA FOI A DE 40MM DE DIÂMETRO.	56
FIGURA 5-3: (A) IMAGEM DE APE DO PHANTOM SIMULADOR DE TECIDO BIOLÓGICO, NA IMAGEM PODE-SE OBSERVAR AS TRÊS INCLUSÕES ISOECÓICAS COM RIGIDEZES DIFERENTES. (B) IMAGEM DE MODO-B DO MESMO PHANTOM, NÃO É POSSÍVEL NELA NOTAR AS TRÊS INCLUSÕES.	57
FIGURA 5-4: BOXPLOT CONTENDO OS VALORES REFERENTES A UMA ROI EM CADA INCLUSÃO.	58
FIGURA 6-1: SINAIS DE APE DE CADA UM DOS GRUPOS. EM PRETO O GRUPO CONTROLE E EM VERMELHO O GRUPO OSTEOPORÓTICO.	66
FIGURA 6-2: SINAL DE APE PARA CADA UM DOS OSSOS VERSUS CADA UM DOS PARÂMETROS DE MICRO-CT. (A) SINAL DE APE vs. BV/TV; (B) SINAL DE APE vs. Tb.Th; (C) SINAL DE APE vs. Tb.TN; (D) SINAL DE APE vs. Tb.Sp; (E) SINAL DE APE vs CONN; (F) SINAL DE APE vs CONN.D.	68

FIGURA 6-3: IMAGEM DO FÊMUR DE RATO OBTIDA ATRAVÉS DA TÉCNICA APE; (B) FOTOGRAFIA DO MESMO FÊMUR DE RATO TIRADA APROXIMADAMENTE NO MESMO ÂNGULO E ÁREA.	70
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

Lista de Tabelas

TABELA 4-1: FWHM E SNR OBTIDAS PARA CADA UM DOS FIOS UTILIZADOS. O SÍMBOLO (*) INDICA QUE NÃO FOI POSSÍVEL DETERMINAR O VALOR.	49
TABELA 5-1: : VALORES PARA O MÓDULO DE YOUNG ENCONTRADOS PARA OS DIFERENTES TIPOS DE TECIDO MOLES.....	54
TABELA 5-2: VALORES MÉDIOS DE SINAL DA APE OBTIDOS EM UMA ROI NO INTERIOR DE CADA UMA DAS INCLUSÕES E VALORES DE MODULO DE YOUNG OBTIDOS ATRAVÉS DOS ENSAIOS DE COMPRESSÃO.	59
TABELA 6-1: VALORES OBTIDOS ATRAVÉS DA APE PARA OS GRUPOS CONTROLE E OSTEOPORÓTICOS.	65
TABELA 6-2 (A):SINAIS DE APE E MICRO-CT PARÂMETROS PARA CADA AMOSTRA DO GRUPO CONTROLE	66
TABELA 6-3: RESULTADOS DOS TESTES DE CORRELAÇÃO DE SPEARMAN ENTRE OS PARÂMETROS DE MICRO-CT E O SINAL DE APE.	69

Lista de Abreviaturas

VA	Vibro-acustografia.
RF	Radio Frequência.
SSI	Imagem de Onda de Cisalhamento (do inglês <i>Supersonic shear Imaging</i>).
FFT	Transformada Rápida de Fourier (do inglês <i>Fast Fourier transform</i>).
SPPA	Media espacial media do pico do pulso (do inglês <i>Spatial peak pulse average</i>).
FWHM	Largura à meia Altura (do inglês <i>Full-width at half maximum</i>).
SNR	Razão Sinal Ruído (do inglês <i>Signal to noise ratio</i>).
ROI	Região de interesse (do inglês <i>Region of interest</i>).
APE	Acustografia Pulso/Emissão.
DXA	Absorciometria de raios-x de dupla energia (Dual Energy x-ray absorptiometry).
BMD	Densidade mineral óssea (do inglês <i>Bone mineral density</i>).
QUS	Ultrassom quantitativo (do inglês <i>Quantitative Ultrasound</i>).

Lista de Símbolos

ω	Frequência angular.
$f(t)$	Função envelope do pulso de excitação.
V	Volume.
q	Densidade volumétrica de fontes isotrópicas.
dv	Elemento de volume.
p_i	Pressão diferencial total gerada pelas ondas primárias.
ρ_0	Densidade do meio.
c_0	Velocidade do som no meio.
P	<i>Pressão total.</i>
γ	Calor específico.
t	Tempo.
x, y, z	Direções no eixo de coordenadas cartesiano.
α	Coefficiente de atenuação do meio.
k	Número de onda.
C	Constante contendo parâmetros mecânicos e geométricos.
R	Posição arbitrária no espaço.
$p(\omega)$	Função de onda de pressão.
$H(\omega)$	Função de transferência do detector.
$W(R, \omega)$	Resposta acústica e mecânica do meio.
$Y(\omega)$	Sinal detectado como resposta da interação da onda de excitação com o meio.

$F_r(R, t)$	Força de excitação no ponto R .
L	Operador relacionado à distribuição de rigidez do meio.
$M(R)$	Distribuição de massa em um domínio.
$W_n(R)$	Superposição dos modos normais da resposta acústica e mecânica do meio.
$q_n(t)$	sistema de coordenadas generalizadas dependentes do tempo.
$F_r(R, t)$	Força de natureza harmônica.
F	Amplitude da força de excitação.
ω_n	Enésima frequência de ressonância do sistema.
ζ	Coefficiente de atenuação do sistema.
c_a	Fator de proporcionalidade.
P_e	Campo acústico proporcional à amplitude de vibração.
Z_0	Ponto pertencente ao eixo axial do transdutor de excitação.
s	Área do transdutor de excitação.
π	Número pi.
λ	Comprimento de onda.
U	Amplitude de vibração da cerâmica pertencente ao transdutor ultrassônico.
J_{inc}	Função de Bessel de primeira ordem.
En	Densidade de energia de uma onda acústica.
d_r	Coefficiente de arraste complexo.
S	Área da seção de choque.
Π_a	Potência total absorvida.
Π_e	Potência total espalhada.

γ	Intensidade espalhada.
β	Ângulo formado entre o feixe incidente e o espalhado.
dS	Elemento de área.
Z_a	Impedância acústica.
$v_p(\vec{R}, \omega)$	Velocidade da partícula.
$p(\vec{R}, \omega)$	Fasor de pressão.
Z_e	Impedância acústica específica.
R_p	coeficiente de reflexão da pressão.
θ_i	Ângulo de incidência da onda de pressão.
θ_t	Ângulo de transmissão da onda de pressão.
T_p	Coefficiente de transmissão da pressão.
<i>Sync</i>	Saída de <i>trigger</i> .
f_r	Frequência de ressonância.
dB	Decibéis.
θ	Ângulo genérico.
J	Função janela.
C_A	Capacitância do amplificador do hidrofone de agulha.
C_H	Capacitância do hidrofone de agulhas.
$G(f)$	Ganho do pré-amplificador do hidrofone de agulha.
$S_H(f)$	Sensibilidade do hidrofone de agulhas em circuito aberto.
$S_l(f)$	Sensibilidade do conjunto do hidrofone de agulha.
Z_a	Impedância característica da água.
T_p	Duração do pulso que chega ao hidrofone de agulha.

B_f	Largura de banda em frequência.
E	Módulo de Young.
G	Módulo de cisalhamento.
K	Módulo volumétrico.
σ	Coefficiente de Poisson.

Sumário

1.	Introdução.....	1
1.1	Objetivo Geral.....	4
1.2	Objetivos específicos.....	5
1.3	Organização da Tese.....	6
2.	Fundamentação Teórica.....	7
2.1	Métodos elastográficos ultrassônicos.....	7
2.2	Efeitos não lineares associados à propagação acústica.....	10
2.3	Campo acústico gerado por um transdutor focalizado.....	18
2.4	Densidade de energia transportada por uma onda acústica.....	19
2.5	Força de radiação acústica.....	20
2.6	Impedância Acústica.....	Erro! Indicador não definido.
2.7	Coeficientes de reflexão e transmissão.....	Erro! Indicador não definido.
3.	Materiais e métodos.....	21
3.1	Arranjo experimental.....	21
3.2	Posicionamento das amostras.....	22
3.3	Sistema de Excitação.....	23
3.4	O transdutor ultrassônico para excitação.....	25
3.5	Aquisição dos sinais.....	26
3.6	Processamento dos sinais adquiridos.....	28
3.7	Formação de imagens pela técnica APE.....	30
4.	Experimentos de caracterização e otimização do sistema.....	31
4.1	Calibração do transdutor ultrassônico focalizado.....	32
4.1.1	Resposta em frequência do transdutor.....	34
4.1.2	Mapeamento da pressão no foco do transdutor.....	35

4.1.3	Potência gerada no foco do transdutor em função da tensão	36
4.1.4	Sensibilidade do hidrofone em função da frequência	39
4.1.5	Verificação do contraste em função da duração do pulso de excitação.	41
4.1.6	Atenuação da onda acústica de baixa frequência em função da distância entre a amostra e o hidrofone.	43
4.1.7	Avaliação do sinal da APE em função do ângulo de posicionamento do hidrofone de detecção.	45
4.1.8	Determinação da resolução lateral do sistema.....	48
5.	Caracterização de tecidos moles	50
5.1	Introdução.....	50
5.1.1	Elasticidade dos materiais.	50
5.1.2	Elasticidade dos tecidos biológicos.	51
5.1.3	Materiais e métodos.....	54
5.1.4	Resultados	57
6.	Caracterização de tecido ósseo	59
6.1	Osteoporose.....	59
6.2	técnicas ultrassônicas na caracterização óssea	60
6.3	Experimento para verificar a aplicabilidade da técnica APE na obtenção de parâmetros mecânicos de tecidos ósseos.....	62
6.3.1	Materiais e métodos.....	62
6.3.2	Resultados da técnica APE no diagnóstico de osteoporose.....	65
6.4	Imagem de tecido ósseo <i>In-vitro</i>	69
6.4.1	Materiais e métodos.....	69
6.4.2	Resultados referentes à imagem de tecido ósseo através da APE.	69
7.	Discussão Geral.....	71
8.	Considerações Finais	74

8.1	Conclusões	74
8.2	Perspectivas	75
9.	Referencias	76

1. INTRODUÇÃO.

As mudanças na elasticidade e na rigidez dos tecidos biológicos tem relação direta com diversos processos patológicos [1], [2]. Usualmente os médicos apalpam esses tecidos para obter informações sobre a rigidez dos tecidos ou presença de nódulos, porém esse tipo de exame está sujeito à habilidade de cada médico e, em algumas situações, pode apresentar uma grande imprecisão[3]. Por isso, para se obter uma avaliação com uma maior precisão neste tipo de diagnóstico, diferentes métodos vêm sendo desenvolvidos.

Com o intuito de se obter informações quantitativas das propriedades mecânicas de diferentes tecidos uma classe de técnicas denominada Elastografia foi desenvolvida. Introduzida por Ophir *et al.* [4], consiste na obtenção de parâmetros mecânicos através da estimativa da deformação da porção do tecido diante de uma força aplicada de forma quase-estática ou dinâmica [5], [6]. A força utilizada para deslocar o tecido pode ser de natureza estática ou dinâmica. A excitação dinâmica fornece informações sobre as propriedades do tecido na forma de um espectro de frequências e por este motivo existe um interesse particular em se estudar este tipo de técnica. O ultrassom é usualmente utilizado como uma ferramenta para medir o deslocamento do tecido de forma precisa com boa resolução espacial [7]. Outras técnicas como a Ressonância Magnética também podem ser utilizadas para medir tal deslocamento[8].

Na maioria dos métodos elastográficos, uma força conhecida é aplicada ao objeto e o movimento resultante é medido utilizando-se técnicas ultrassônicas. Os parâmetros mecânicos são, então, calculados a partir do nível de deformação proporcionado à região de interesse pela força de radiação acústica aplicada. Na maioria das vezes a região de interesse está localizada em regiões profundas do corpo, além disso, ao longo do caminho entre a região de interesse e a fonte de ultrassom existem camadas com diferentes tipos de tecidos, ou seja, com diferentes impedâncias mecânicas. Nesses casos, a força aplicada à região de interesse depende das propriedades elásticas dos tecidos localizados entre a região de interesse e a fonte ultrassônica. Então a estimativa dos parâmetros mecânicos da região de interesse depende também dos tecidos adjacentes e isso pode vir a se tornar um problema[9]. Uma forma de superar esta dificuldade é aplicar a força de forma localizada diretamente na região de interesse utilizando ondas ultrassônicas focalizadas. Uma força pode ser produzida utilizando campos acústicos devido à absorção ou à reflexão[10]. A utilização deste tipo de técnica para se gerar a força de forma localizada nos tecidos de interesse possui uma série de vantagens, como:

- (a) A força de radiação acústica é não-invasiva.
- (b) A força pode ser aplicada de forma localizada, sem afetar significativamente as áreas ao redor.
- (c) A força pode ser aplicada de forma dinâmica.
- (d) Pode-se variar a forma e a frequência da onda emitida.
- (e) É relativamente simples adaptar as tecnologias existentes para produzir o tipo de radiação ultrassônica necessária para aplicar tal força.

Estas e outras vantagens fazem com que seja muito atrativa a utilização da força de radiação acústica comparando-se com outros métodos utilizados em Elastografia.

A utilização de ondas ultrassônicas focalizadas abre um leque de possibilidades para a caracterização de tecidos e também para a geração de imagens. Geralmente, as técnicas que fazem uso desse tipo de excitação são separadas das técnicas convencionais de ultrassom que são utilizadas na caracterização e no imageamento de tecidos biológicos. Utilizar força de radiação acústica dinâmica para excitar o tecido faz com que seja possível analisá-lo baseando-se em vibrações de baixa frequência ao invés de apenas utilizar parâmetros tradicionais. [10]–[13].

Um dos métodos que utilizam força de radiação acústica para excitar os tecidos é chamado de Vibro-acustografia (VA). A VA faz uso da resposta acústica gerada utilizando duas ondas ultrassônicas focalizadas no mesmo ponto com uma pequena diferença em frequência entre elas, resultando em uma resposta acústica com frequência igual à diferença de frequência das duas ondas incidentes. Nesse método, as ondas de mais alta frequência (MHz) interagem com o tecido e ocorre a geração de uma resposta em mais baixa frequência (kHz) que carregam informações mecânicas da porção do tecido onde os feixes interagiram entre si [14]–[17].

O efeito da radiação acústica dinâmica no local no qual a mesma está sendo aplicada foi recentemente explorado e tais estudos mostraram que a resposta obtida na VA surge a partir da interação não linear do feixe de ultrassom com o meio. Silva, *et al* mostrou que quando duas ondas com frequências ligeiramente diferentes interagem, ocorre o surgimento de efeitos paramétricos [18], [19]. Entretanto, para maximizar a resposta acústica obtida utilizando esta técnica se faz necessária a utilização de uma

diferença de frequência entre as ondas incidentes que seja otimizada para cada caso, este processo pode se tornar uma tarefa exaustiva pois não é possível saber de antemão qual a frequência a ser utilizada. Além disso, ao escolher uma frequência, informações importantes podem ser perdidas no processo. Devido a essas desvantagens uma nova técnica baseada na VA foi proposta pelo grupo de Inovação em Instrumentação Médica e Ultrassom (GIIMUS) da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Esta técnica consiste na utilização de apenas um pulso de radiação focalizada de curta duração para excitar o tecido e adquirir-se a resposta acústica que surge da interação da onda no meio utilizando-se um hidrofone dedicado. O sinal acústico adquirido é composto de baixas frequências (kHz) mas possui uma banda de frequências mais larga do que o sinal de VA devido à natureza do sinal de excitação, isso faz com que seja possível uma análise espectral que possui informações adicionais sobre as propriedades mecânicas do tecido. Esta técnica foi nomeada Acustografia por pulso emissão (APE).

1.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho foi explorar como se dá a interação de pulsos ultrassônicos focalizados de alta frequência (MHZ) com o meio e avaliar as variações no espectro acústico de baixa frequência emitido a partir dessa interação para identificar mudanças nas propriedades mecânicas de tecidos moles e tecidos ósseos.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver um protocolo de imageamento usando radiação ultrassônica de alta frequência (MHZ) e detecção em baixa frequência (kHz).
- Explorar e identificar os principais fenômenos físicos envolvidos na forma de excitação por ultrassom, na interação da onda ultrassônica com o meio material e na emissão sonora em baixa frequência.
- Avaliar o potencial da técnica desenvolvida na caracterização de tecidos biológicos através de aplicações piloto *in vitro*, tais como: identificação de inclusões com diferenças de rigidez em meios com propriedades mecânicas e acústicas equivalentes aos tecidos biológicos
- Avaliar o contraste na imagem devido a pequenas alterações mecânicas em uma região do tecido *in vitro*;
- Testar diferentes formas de pulso de excitação de modo a detectar a melhor relação sinal/ruído para o sistema;
- Explorar o potencial da técnica proposta (APE) na produção de imagens de tecidos moles e tecidos rígidos com alta impedância acústica (como os tecidos ósseos, por exemplo).

1.3 ORGANIZAÇÃO DA TESE

A organização da tese está representada no organograma da figura 1-1. No capítulo 2, é apresentada uma fundamentação teórica que descreve matematicamente como se dá a interação de um pulso ultrassônico focalizado de alta frequência (MHz) com o meio e a geração do sinal de baixa frequência (kHz) resultante. No capítulo 3, são abordados os materiais e métodos utilizados na realização de experimentos envolvendo a técnica APE. No capítulo 4, são apresentados os experimentos de caracterização de todos os sistemas envolvidos na realização dos experimentos bem como é demonstrada a existência de contraste através da técnica APE. No capítulo 5, são apresentados os experimentos de aplicação da técnica APE na caracterização de tecidos moles. No capítulo 6, são apresentados os experimentos de aplicação da técnica APE na caracterização de tecidos ósseos, com foco especial no diagnóstico de osteoporose. No capítulo 7, é feita uma discussão geral de todos os resultados apresentados com ênfase nas principais aplicações realizadas na caracterização mecânica de tecidos biológicos e na formação de imagens ponderadas diferenças das propriedades mecânicas das amostras. No capítulo 8, conclui-se a tese, dando uma perspectiva do desenvolvimento da técnica APE e das aplicações da mesma. Nesta mesma seção, são apresentadas algumas perspectivas para trabalhos futuros e trabalhos gerados nesta tese.

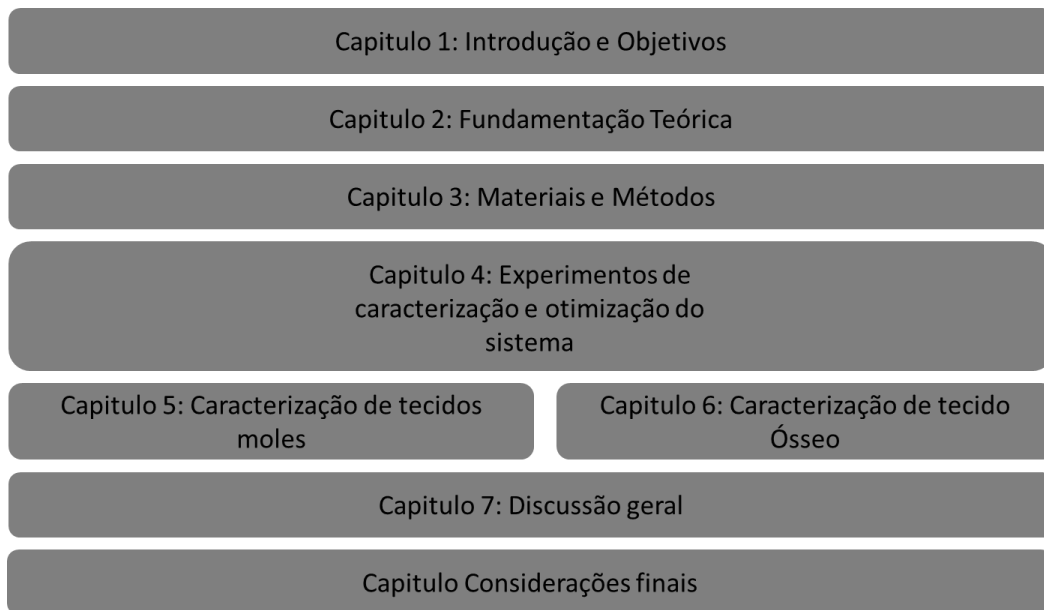


Figura 1-1: Esquemático da organização da tese.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.

2.1 MÉTODOS ELASTOGRÁFICOS ULTRASSÔNICOS.

A Elastografia quase-estática também conhecida como *freehand* caracteriza-se pela produção de uma deformação no tecido gerada pela aplicação de compressões cíclicas manualmente. Os sinais de radiofrequência (RF) possuem uma ampla faixa de frequência e são gerados pela interação da onda mecânica com os elementos do meio. A correlação cruzada entre pares de sinais RF armazenados é utilizada para diferenciação do sinal antes e após a compressão do meio analisado e então é gerada a imagem da deformação como mostrado na figura 2-1.

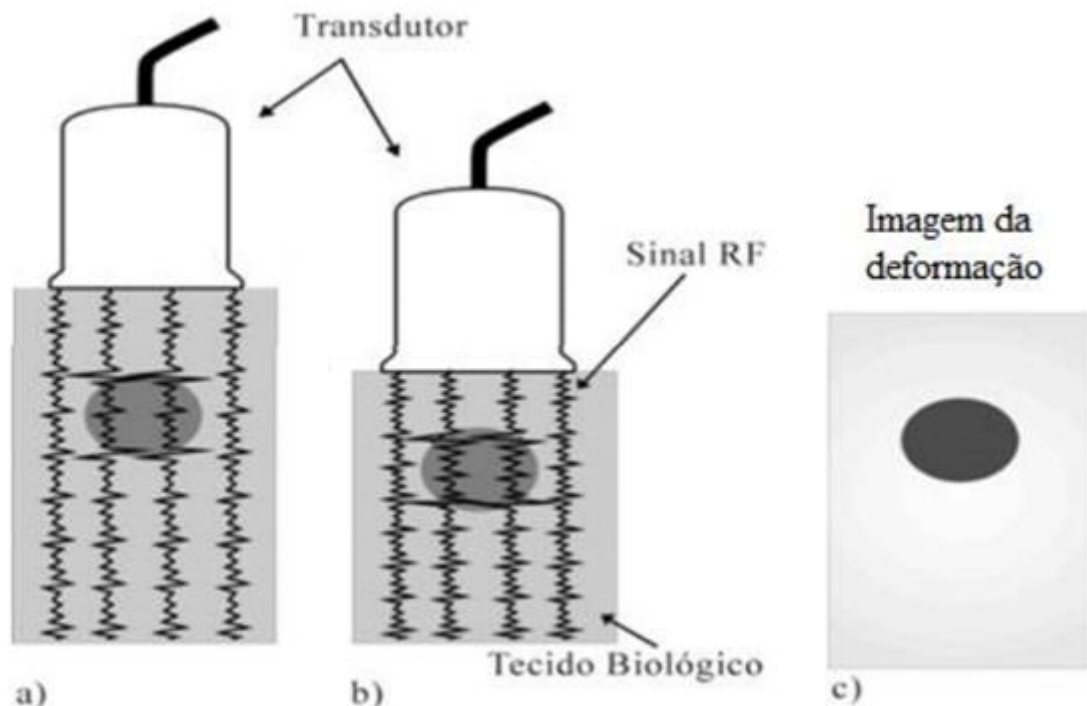


Figura 2-1: Esquema da Elastografia quase-estática mostrando o sinal de radiofrequência (RF) antes (a) e após (b) a compressão manual e a imagem de deformação (c). Note que o sinal RF na região circular não se altera após a compressão, o que indica menor deformação (Adaptado de KONOFAGOU et al., 2003).

A principal desvantagem da Elastografia quase-estática está no fato de a mesma produzir apenas dados qualitativos por ser uma técnica operador-dependente fazendo com que a tensão aplicada não seja conhecida, não fornecendo então parâmetros que auxiliem no diagnóstico clínico [20], [21].

Os métodos elastográficos dinâmicos mais comuns baseiam-se na propagação de ondas de cisalhamento para a caracterização das propriedades mecânicas do tecido [22]. Em 1999, no *Institut Lingevin* a Elastografia em duas dimensões foi introduzida possibilitando um mapeamento da elasticidade do tecido tanto na direção axial quanto na direção transversal do tecido [23]. Em 2004, a chamada *Supersonic shear imaging* (SSI) foi desenvolvida a partir dos estudos de Mathias Fink e sua equipe [24]. A SSI foi implantada em equipamentos comerciais de ultrassom e está na vanguarda das técnicas

elastográficas. Na SSI combina-se força de radiação acústica com um método de aquisição super rápido (denominado *ultrafast*) possibilitando um grande avanço na caracterização em tempo real do tecido biológico.

Em paralelo com a criação da SSI, um outro método capaz de fornecer informações quantitativas do tecido biológico denominado Vibro-acustografia (VA) foi desenvolvido por Fatemi e Greenleaf nos laboratórios da Mayo Clinic em Rochester [14]. A Vibro-acustografia é uma modalidade de imagem na qual se utiliza duas ou mais ondas de ultrassom focalizadas no mesmo ponto com frequências ligeiramente diferentes (na faixa de megahertz) de modo a gerar-se uma frequência de batimento na região do foco (na faixa de quilohertz). Esta onda resultante interage com o tecido produzindo um padrão de vibrações. O som, associado a estas vibrações, pode ser detectado por um hidrofone, processado e associado a cada ponto de uma imagem. A amplitude do som emitido, que é função das propriedades mecânicas do tecido excitado, fornece as informações necessárias para obter-se o contraste. A figura 2-2. ilustra o efeito de batimento que ocorre na vibro-acustografia.

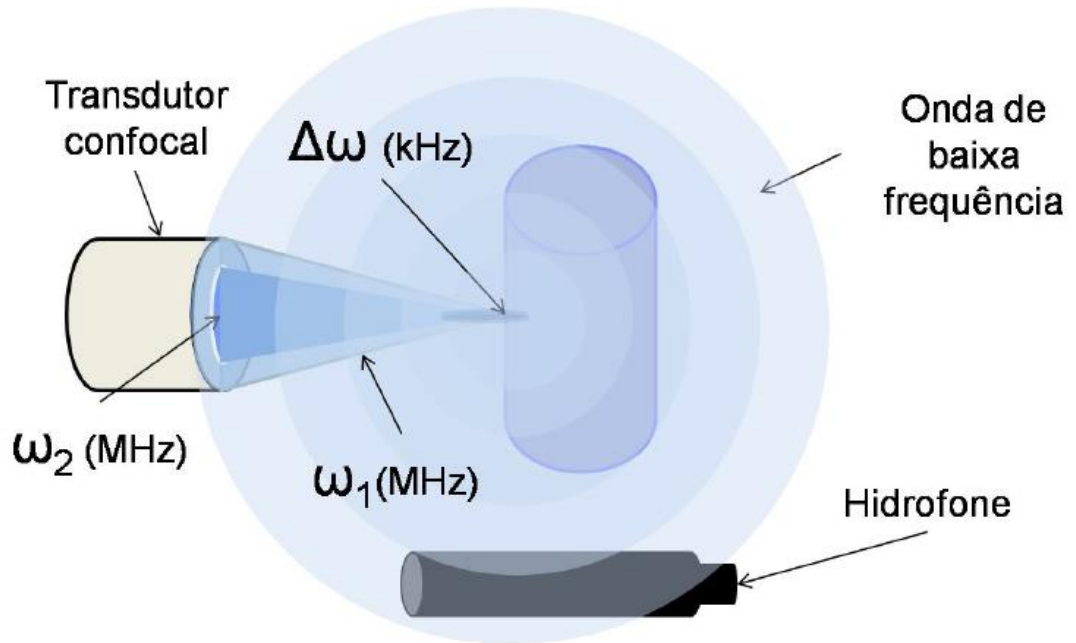


Figura 2-2: Esquema que ilustra o fenômeno de batimento que ocorre na VA. Dois feixes ultrassônicos focalizados no mesmo ponto com frequências diferentes (ω_1 e ω_2), produzem na amostra uma baixa frequência $\Delta\omega = \omega_1 - \omega_2$. (Adaptado da tese de doutorado de André Luís Baggio)

2.2 EFEITOS NÃO LINEARES ASSOCIADOS À PROPAGAÇÃO ACÚSTICA.

Em 1960, Westervelt desenvolveu o emissor paramétrico mostrando a possibilidade da utilização das propriedades não lineares da propagação acústica [25]. Berktrav deu então desenvolvimento a esse trabalho dando origem a uma metodologia para produzir sinais pulsados por meio da auto-demodulação de uma onda primária [26]. Berktrav demonstrou que uma onda portadora primária com uma amplitude modulada por um envelope $f(t)$ produz um sinal secundário cujo padrão é definido por: $\frac{\partial^2(f^2)}{\partial t^2}$. A verificação de qual sinal de excitação produz uma resposta otimizada tem sido estudado por processos numéricos interativos [27]. Em 1993, Averkiou *et al.* descreveu o processo de auto-demodulação a partir de uma equação de onda não linear [26].

Partindo destes trabalhos, Cervenka e Alais desenvolveram baseados na teoria de Fourier o formalismo matemático que descrevia este fenômeno [27].

Ao se propagar por um meio homogêneo, a pressão de radiação acústica gerada por um trem de pulso em um determinado ponto tem a sua intensidade dependente do envelope que modula esta onda. É possível utilizar esse fenômeno para medir-se a intensidade desta onda de forma precisa [28]. Esta propagação se dá de forma não linear, fazendo com que a onda primária interaja com ela mesma (auto-demodulação) dando origem a novas ondas de frequências menores que se propagam de forma independente em relação à onda primária [29]. Westervelt utilizou o princípio de Huygens para demonstrar a formação de tais ondas secundárias de frequências menores tendo como base tais fenômenos de interferências não-lineares entre fontes distribuídas em um volume [25]. Mostrou também que um trem de pulsos ultrassônico de alta potência se comporta como um vetor direcional dipolar (descrito pela equação da antena), possuindo maior intensidade de propagação na direção deste vetor. Isto ocorre, porque os termos não lineares da equação que descreve o movimento da onda fazem com que o feixe se comporte como uma distribuição de fontes para uma frequência modulada.

Ao considerar-se uma onda primária interagindo dentro de um volume V , e utilizando o princípio de Huygens para frentes de ondas, pode-se considerar que há um conjunto infinito de fontes pontuais isotrópicas de densidade volumétrica q . O efeito de tais fontes pontuais é o surgimento de uma nova frente de onda. Considerando-se que tais fontes pontuais são elementos infinitesimais emitindo ondas secundárias, então integrando-se o campo oriundo de cada fonte pode-se calcular o campo

espalhado. Cada fonte terá intensidade qdv sendo dv o elemento de volume que contém uma densidade de fonte q , que depende da posição dentro do volume V . A expressão desenvolvida por Westervelt que representa tal densidade de fontes é mostrada na equação 2.1.

$$q = \frac{1}{\rho_0^2 c_0^4} \frac{\partial(p_i^2)}{\partial t} \left[1 + \frac{\rho_0}{2c_0^2} \left(\frac{d^2 p}{d\rho^2} \right)_{\rho=\rho_0} \right] \quad (2.1)$$

sendo p_i a pressão diferencial total gerada pelas ondas primárias, ρ_0 a densidade do meio e c_0 a velocidade do som no meio. O termo $\frac{d^2 p}{d\rho^2}$ é dependente da relação entre pressão e densidade do meio, considerando-se o processo adiabático e partindo-se da equação de estado adiabática (eq: 2.2) pode-se resolver a equação 2.1.

$$P\rho^{-\gamma} = P_0\rho_0^{-\gamma} \quad (2.2)$$

Sendo γ o calor específico. Derivando P em função de ρ duas vezes e assumindo a condição de $\rho = \rho_0$, temos:

$$\left(\frac{d^2 p}{d\rho^2} \right)_{\rho=\rho_0} = \frac{\gamma(\gamma-1)P_0}{\rho_0^2} \quad (2.3)$$

Como $c_0^2 = \gamma P_0 / \rho_0$ temos que a equação 2.3 é igual a $(\gamma - 1)c_0^2 / \rho_0$.

Substituindo este resultado na equação 2.1, temos:

$$q = \frac{1}{\rho_0^2 c_0^4} \frac{\partial(p_i^2)}{\partial t} \left[1 + \frac{\gamma-1}{2} \right] \quad (2.4)$$

Aproximando-se o calor específico do meio para o calor específico da água afim de simplificar a formulação matemática, que equivale a $\gamma = 1 \text{ cal/g}^0\text{C}$, a equação 2.4 fica sendo igual a:

$$q = \frac{1}{\rho_0^2 c_0^4} \frac{\partial(p_i^2)}{\partial t} \quad (2.5)$$

A pressão diferencial de um pacote de onda acústica plana viajando na direção x pode ser escrita da seguinte forma [30].

$$p_i(t, x) = P_1 e^{(-\alpha_1 x)} f\left(t - \frac{x}{c_0}\right) \cos(\omega_1 t - 2k_1 x) \quad (2.6)$$

Sendo $f(t)$ a função que representa o envelope do pulso.

Assumindo que a frequência da função envelope é muito menor do que a frequência da onda portadora, adotamos um único coeficiente de absorção α_1 . A equação 2.1 depende da pressão diferencial ao quadrado.

$$p_i^2(t, x) = \frac{1}{2} P_1^2 e^{-2\alpha_1 x} f^2\left(t - \frac{x}{c_0}\right) [1 + \cos(2\omega_1 t - 2k_1 x)] \quad (2.7)$$

A partir da equação 2.7 obtém-se duas componentes resultantes da auto-demodulação do trem de pulsos primário. Uma das componentes possui o dobro da frequência da onda portadora ($2\omega_1$), esta componente se atenua rapidamente. A outra componente não possui a portadora, consistindo em uma compressão que funciona como uma fonte efetiva.

Ao substituir a equação 2.7 na equação 2.5 e considerando que a componente de mais alta frequência é atenuada, chega-se na equação 2.8.

$$q = \frac{P_1^2}{2\rho_0^2 c_0^4} e^{-2\alpha_1 x} \frac{\partial}{\partial t} \left[f^2 \left(t - \frac{x}{c_0} \right) \right] \quad (2.8)$$

A densidade de fontes possui uma banda de frequências, o que torna conveniente abordar o problema no espaço K. Aplicando-se a transformada de Fourier na função densidade de fontes e utilizando a aproximação de Westervelt para o modelo paramétrico [25], Berktaav [30] demonstrou que a dependência da pressão acústica com a segunda derivada temporal da função envelope (equação 2.9).

Então, é possível justificar o espectro de frequências resultantes da interação do trem de pulsos com o meio se a forma da função envelope for conhecida.

$$p(t) = C \frac{\partial^2}{\partial t^2} \left[f^2 \left(t - \frac{R}{c_0} \right) \right] \quad (2.9)$$

Sendo $C = \frac{P_1^2 S}{8\pi\rho_0 c_0^4 R \alpha_1}$, S a seção de choque transversal do feixe de excitação, R a

distância axial, α_1 é o coeficiente de absorção do meio, ρ_0 a densidade do meio e c_0 a velocidade de propagação da onda.

Considerando-se um envelope gaussiano $f(t) = A e^{-Bt^2}$, sendo $B = 1/(2\sigma^2)$, $t' = \left(t - \frac{R}{c_0} \right)$ e $A=1$ para simplificar os cálculos. A equação 2.9 pode ser escrita como na equação 2.10.

$$p(t') = C e^{-Bt'^2} (AB^2 t'^2 - B) \quad (2.10)$$

No domínio da frequência a equação 2.10 se escreve como na equação 2.11.

$$p(\omega) = \mathcal{F}\{p(t')\} = -C \frac{\omega^2 e^{-\frac{\omega^2}{8B}}}{2\sqrt{B}} \quad (2.11)$$

O sinal detectado como resultado da interação de tal onda com o meio $Y(\omega)$ no domínio da frequência é função da onda de pressão $P(\omega)$, da função de transferência do detector $H(\omega)$ e a resposta acústica e mecânica do meio $W(R, \omega)$ (equação 2.12).

$$Y(\omega) = P(\omega) * W(R, \omega) * H(\omega) \quad (2.12)$$

sendo pressão $p(\omega)$ é prevista pela equação 2.11 e $H(\omega)$ é obtido através da calibração do detector.

A resposta mecânica do sistema, devida a interação de uma onda de excitação como a descrita pela equação 2.11, com o meio, pode ser então interpretada como uma superposição da resposta dos modos naturais de vibração do sistema face a esta força [31]. O teorema da expansão modal oferece uma formulação para a resposta de sistemas contínuos [31]. Se desconsiderada a atenuação, qualquer sistema contínuo pode ser descrito por uma equação diferencial como na equação 2.13.

$$M(R) \frac{\partial^2 W(R, t)}{\partial t^2} + L[W(R, t)] = F_r(R, t) \quad (2.13)$$

Sendo $F_r(R, t)$ a força de excitação no ponto R , L um operador relacionado à distribuição de rigidez do meio e $M(R)$ a distribuição de massa em um domínio D . Usando o método de separação de variáveis e o teorema da expansão modal, a solução para a equação 2.13 pode ser escrita como uma superposição dos modos normais $W_n(R)$ em um sistema de coordenadas generalizadas dependentes do tempo $q_n(t)$ (equação 2.14).

$$W(R, t) = \sum_{n=1}^{\infty} W_n(R) q_n(t) \quad (2.14)$$

Considerando uma onda de excitação com uma frequência definida ω , produzindo uma auto-demodulação como a descrita por Westervelt [29] e produzindo uma força de natureza harmônica $F_r(R, t) = F\delta(R - R_0)e^{i\omega t}$, agindo na posição $R = R_0$ e sendo F a amplitude da força de excitação. A solução para a equação 2.14 quando a frequência de excitação ω é igual à n -ésima frequência de ressonância no sistema pode ser aproximada para a equação 2.15 [32].

$$W(R, t) = c_n W_n(R_0) \quad (2.15)$$

sendo $c_n = \left(\frac{F}{\omega_n^2}\right) W_n(R) \Gamma_n e^{i\omega t}$, $\Gamma_n = e^{-i\phi_n} / \sqrt{[1 - (\omega - \omega_n)^2]^2 + \left(\frac{2\zeta\omega}{\omega_n^2}\right)^2}$, $\tan \phi_n = \frac{\left(\frac{2\zeta\omega}{\omega_n}\right)}{[1 - \left(\frac{\omega}{\omega_n}\right)^2]}$ e ζ é o coeficiente de atenuação.

No domínio da frequência a equação 2.15 pode ser escrita como a equação 2.16.

$$W(R, \omega) = \mathcal{F}\{W(R, t)\} = 2\pi c_n W_n(R_0) \quad (2.16)$$

O sistema produz um campo acústico proporcional à amplitude de vibração [33], resultando na equação 2.17.

$$P_e(R, \omega) = 2c_a c_n W_n(R_0) \quad (2.17)$$

Sendo c_a o fator de proporcionalidade entre a amplitude de vibração e a amplitude de pressão.

A equação 2.17 mostra que o contraste obtido em técnicas que utilizam este tipo de padrão de excitação depende do espalhamento do sistema, as diferenças nas

propriedades mecânicas do meio estão presentes no coeficiente C da equação 2.11 e a resposta do sistema à força acústica aplicada é dada pela equação 2.17.

A fim desse estimar o espectro resultante descrito uma simulação foi feita utilizando-se como onda de excitação uma onda contendo cem ciclos, de frequência 3 MHz modulada por uma função envelope de formato gaussiano (Figura 2-3) gerada por um transdutor ultrassônico focalizado se propagando em água e interagindo com uma esfera metálica de 1 mm de diâmetro na região irradiada. O espectro normalizado resultante de tal simulação pode ser visto na figura 2-4. Observa-se no espectro obtido que a resposta esperada possui frequências que vão de 30 kHz á 110 kHz.

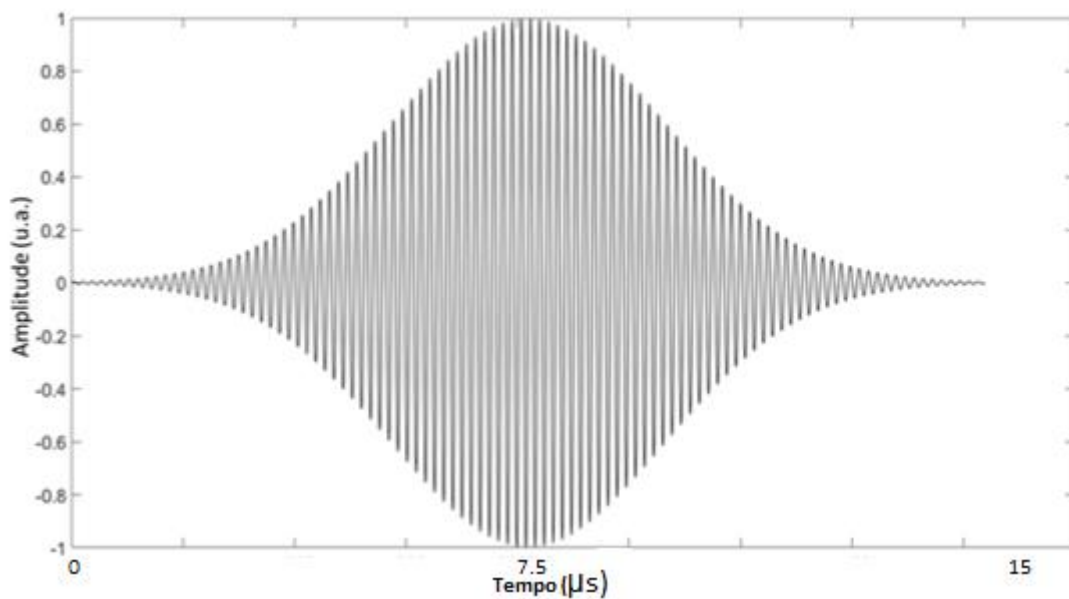


Figura 2-3: Forma de onda de excitação contendo cem ciclos, de frequência 3 MHz modulada por uma função envelope de formato gaussiano.

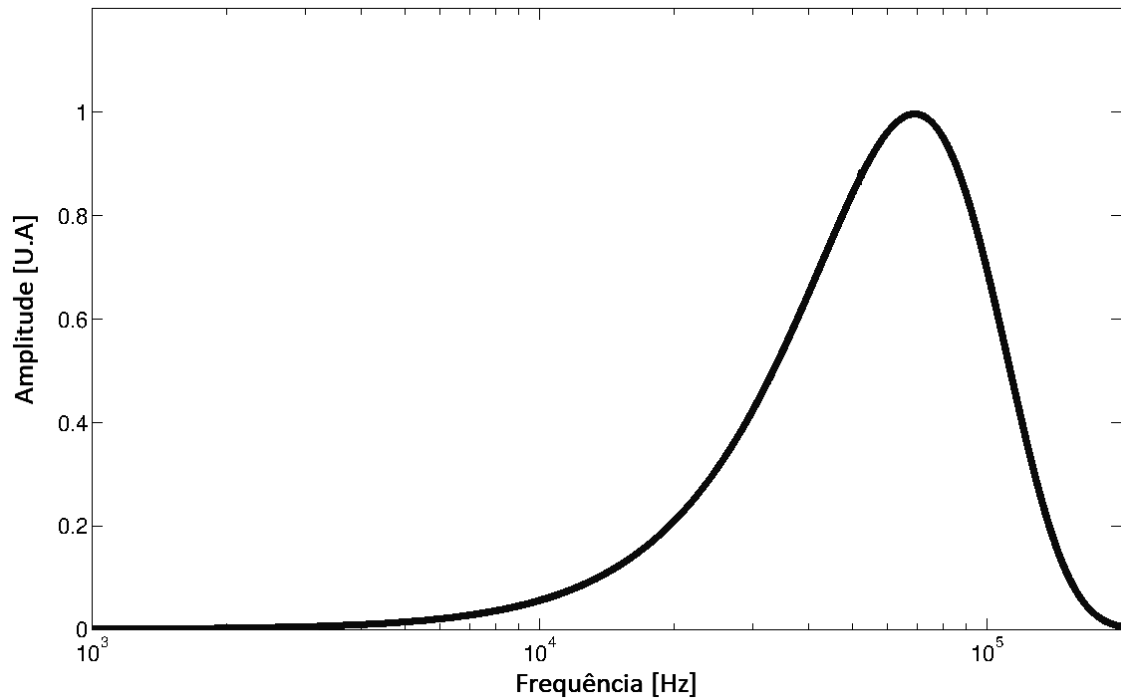


Figura 2-4: Resposta espectral normalizada resultante da equação 2.17 ao considerar-se uma onda de excitação como a representada na figura 2-3 interagindo com uma esfera metálica de 1 mm de diâmetro submersa em água.

2.3 CAMPO ACÚSTICO GERADO POR UM TRANSDUTOR FOCALIZADO.

A pressão acústica gerada por um transdutor confocal esférico composto de um disco de raio S para uma frequência angular ω e número de onda k é dada pela equação 2.18 [34].

$$P(r, t) = e^{-i(\omega t - kr)} P_i(r) \quad (2.18)$$

Na equação 2.19 define-se a pressão acústica $P_i(r)$ para um ponto Z_0 pertencente ao eixo axial do transdutor.

$$P_i(Z_0) = \pi \rho c U \left(\frac{1}{\lambda Z_0} \right) jinc \left(\frac{s \cdot \text{sens}}{\lambda} \right) s^2 \quad (2.19)$$

Sendo $\epsilon = \sqrt{x^2 + y^2}$, J_1 a função de Bessel de primeira ordem, λ o comprimento de onda, U a amplitude da vibração do elemento e s o raio do transdutor emissor da onda ultrassônica.

2.4 DENSIDADE DE ENERGIA TRANSPORTADA POR UMA ONDA ACÚSTICA

A densidade de energia de uma onda acústica (E) é a razão entre a energia acústica e o volume do fluido pelo qual ela se propaga. Uma onda esférica, de raio de curvatura da frente de onda muito maior do que o comprimento de onda da mesma, pode ser aproximada por uma onda plana. Pode-se então descrever a densidade de energia através da equação 2.20:

$$En = \frac{P(Z_0, t)^2}{2\rho c^2} \quad (2.20)$$

Sendo ρ a densidade do meio material e c a velocidade da onda.

Substituindo-se a equação 2.18 na 2.20 e tomando-se a parte real obtém-se a densidade de energia na região focal descrita pela equação 2.21[35].

$$En = \frac{P(Z_0, t)^2}{2\rho c^2} [\text{real}(P_1(Z_0)e^{i(\omega t + kZ_0)})] \quad (2.21)$$

2.5 FORÇA DE RADIAÇÃO ACÚSTICA

Um dos primeiros trabalhos sobre força de radiação acústica foi publicado por Rayleigh mais de um século atrás [36]. O trabalho de Torr *et al.* traz análises das teorias que descrevem tal fenômeno físico [37]. R. E. Beyer fez uma revisão histórica sobre força de radiação [38]. O trabalho de Rudenko *et al.* foi relevante para materiais atenuantes [39].

Considerando-se um feixe ultrassônico colimado incidindo sobre um objeto de impedância acústica maior do que o meio circundante, interações não lineares de espalhamento e absorção transferem energia ao objeto. A força de radiação que age sobre este objeto é proporcional à radiação que interage com o mesmo. Tal força pode ser escrita como mostrado na equação 2.22[14].

$$F = d_r S \langle En \rangle \quad (2.22)$$

Sendo S a área da secção de choque, $\langle En \rangle$ é a média temporal da densidade de energia da onda incidente e d_r é o coeficiente de arraste complexo. d_r é uma grandeza adimensional que é função das propriedades acústicas do objeto em questão.

Define-se o coeficiente de arrasto complexo por unidade de densidade de energia da onda incidente através da equação 2.23.

$$d_r = \frac{1}{S} (\Pi_a + \Pi_e - \int \gamma \cos \beta ds) = \frac{j}{S} \int \gamma \cos \beta dS \quad (2.23)$$

Sendo Π_a e Π_e as potências totais absorvidas e espalhadas respectivamente, γ é a intensidade espalhada, β é o ângulo formado entre o feixe incidente e o espalhado, S é a seção de choque e dS o elemento de área.

3. MATERIAIS E MÉTODOS.

Neste capítulo são apresentados os materiais e métodos utilizados em todos os experimentos de caracterização e aplicação da técnica APE. São abordados os arranjos experimentais utilizados em todos os experimentos além de serem descritos os processos envolvidos na excitação do transdutor ultrassônico responsável pela emissão das ondas acústicas, na aquisição dos sinais de resposta oriundos da interação de tais ondas com o meio ao qual se deseja caracterizar e também no processamento de tais sinais.

3.1 ARRANJO EXPERIMENTAL

O arranjo experimental da APE é composto de um sistema de excitação ultrassônico focalizado com banda de frequência na faixa de megahertz e um sistema de aquisição com banda na faixa de quilohertz. Os experimentos foram realizados em

um tanque acústico de dimensões 100 x 64 x 37 cm que possui um sistema de posicionamento robótico 3D controlado por computador para o posicionamento das amostras e dos transdutores. A figura 3-1 ilustra os detalhes do aparato experimental.

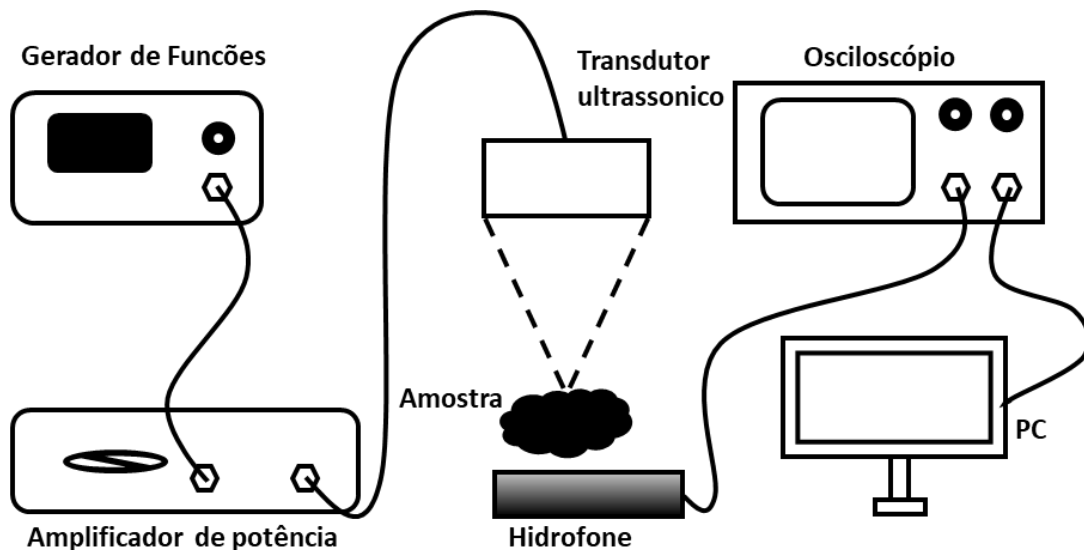


Figura 3-1: Arranjo experimental para formação de imagens por APE: Um gerador de funções cria um padrão de sinal no modo burst que é amplificado de modo a energizar o transdutor ultrassônico. Com um sistema de rastreamento 3-D, o foco do transdutor é posicionado em diferentes pontos da amostra. Para cada ponto o sinal acústico é detectado pelo hidrofone e processado.

3.2 POSICIONAMENTO DAS AMOSTRAS

As amostras foram posicionadas dentro do tanque acústico, com o auxílio do sistema de posicionamento tridimensional controlado por computador. Para saber a exata distância entre o transdutor e a amostra utilizou-se um sistema de *pulse/receiver* (Modelo 5800PR, Olympus®, EUA) que alimenta o transdutor ultrassônico com um pulso fazendo com que o mesmo emita uma onda e adquire o eco resultante desta

emissão. Este sinal foi enviado à um osciloscópio digital (Modelo Agilent InfiniiVision série 7000B, Agilent®, Santa Clara, California, EUA). A partir da medida do tempo entre a emissão da onda e a sua detecção pode-se calcular, com precisão, a distância entre o transdutor e as diferentes superfícies refletoras. Este mesmo procedimento foi utilizado para posicionar amostras de dimensões reduzidas na região focal do transdutor focalizado, assumia-se neste caso que quando a amplitude do sinal de eco era máxima o objeto estava posicionado na região focal. A figura 3-2 ilustra este sistema.

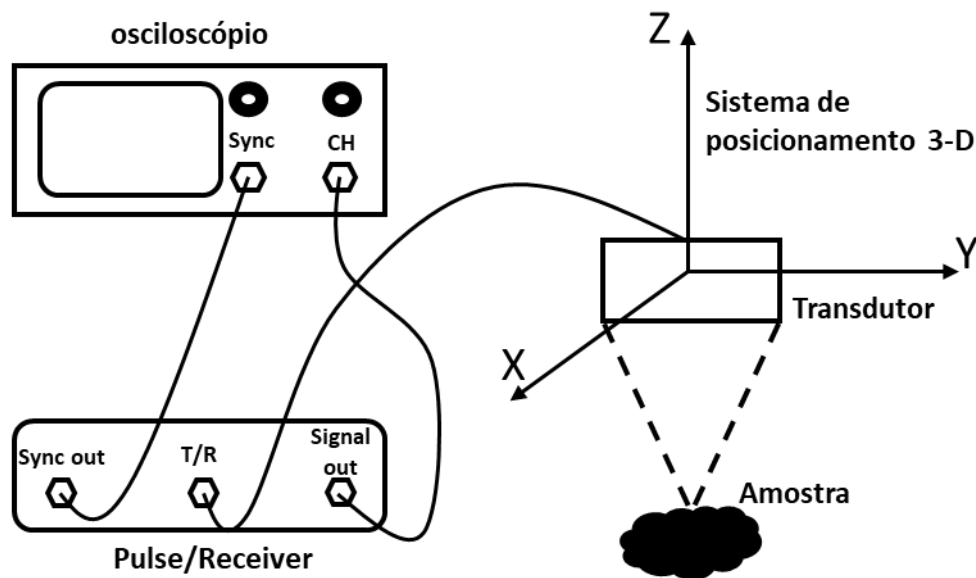


Figura 3-2: Sistema Pulse/Receiver utilizado para o posicionamento da amostra no foco do transdutor.

3.3 SISTEMA DE EXCITAÇÃO

O sistema de excitação é composto de um transdutor ultrassônico focalizado, 1 gerador de função (modelo Agilent 3322^a, Agilent[®], Santa Clara, California, EUA) e um amplificador de potência com ganho nominal de 20 dB, com faixa de frequência entre 0,5 e 5MHz), também de fabricação própria. O sinal de excitação, com padrão pré-definido, foi criado no *software* Matlab[®] e então carregado via USB na memória do gerador de funções. O padrão de excitação era de forma senoidal modulado por um envelope segundo uma função gaussiana, tal padrão foi utilizado para reduzir o transiente existente nos momentos em que o transdutor ultrassônico era energizado e desenergizado, a figura 3-3 mostra a forma do padrão de excitação. Este sinal era então amplificado pelo amplificador. O sinal foi gerado na frequência de ressonância do transdutor f_r com diferentes durações temporais, ou seja, contendo diferentes quantidades de ciclos completos da frequência f_r . A amplitude do sinal após amplificado foi de 40V.

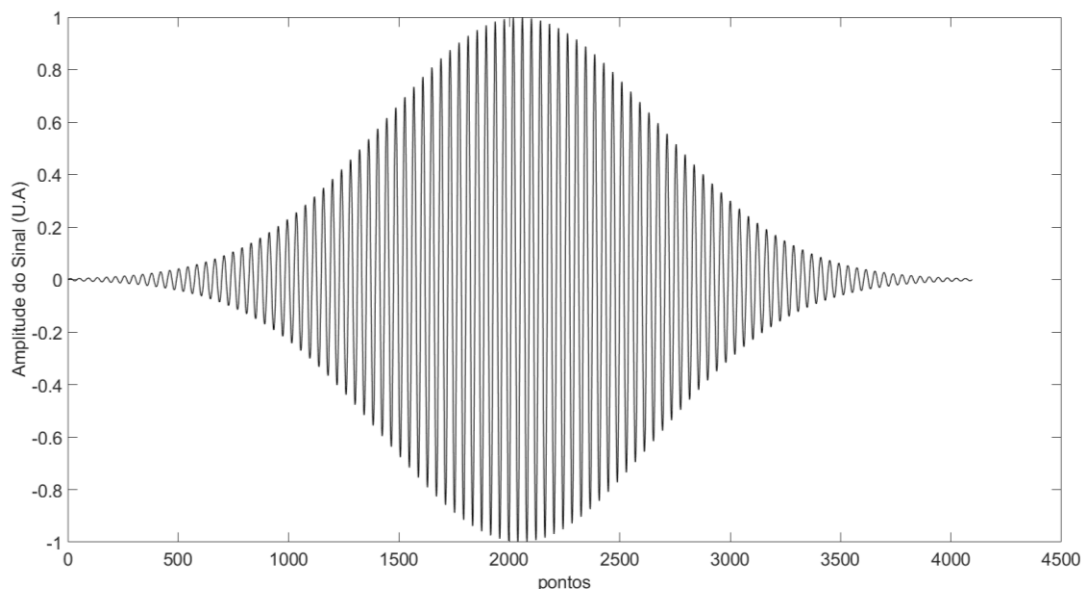


Figura 3-3: forma de onda de excitação enviada ao gerador de funções. Esta forma de onda foi utilizada com o intuito de diminuir o ruído gerado pelos transientes que ocorrem quando o transdutor ultrassônico é energizado.

3.4 O TRANSDUTOR ULTRASSÔNICO PARA EXCITAÇÃO.

Para a produção da radiação ultrassônica pulsada com um único feixe utilizou-se um transdutor (de fabricação no próprio laboratório) que consiste de uma cerâmica piezoelétrica produzida a partir de um disco de PZT 4 de formato semiesférico com diâmetro de 40,0 mm, com um foco a 50 mm de comprimento e frequência de ressonância f_r 3,16 MHz. Na figura 3-4 pode-se ver o esquema do transdutor e na figura 3-5 fotos do transdutor utilizado.

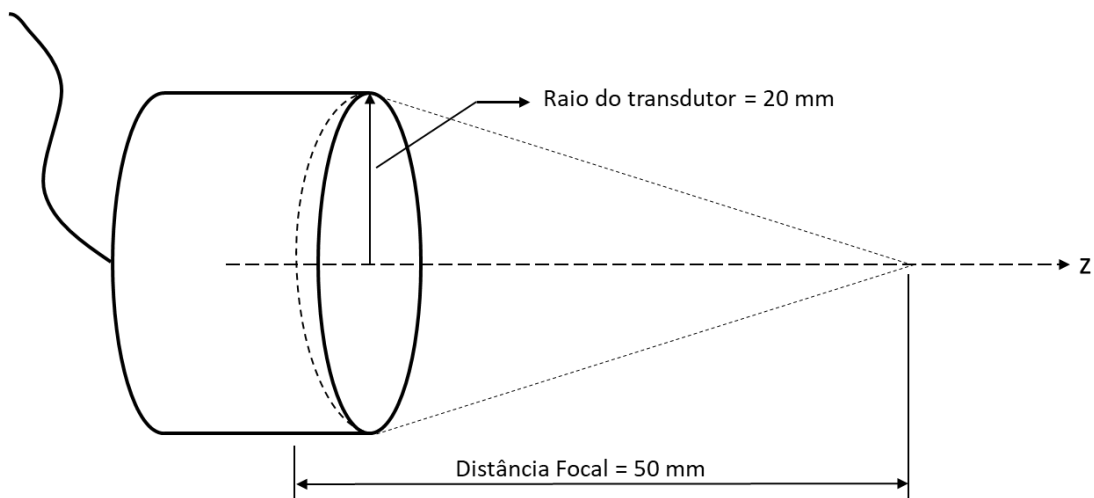


Figura 3-4: Esquema representando o transdutor utilizado nos experimentos de APE. consiste de uma cerâmica piezoelétrica produzida a partir de um disco de PZT 4 de formato semiesférico com diâmetro de 40,0 mm, com um foco a 50 mm de comprimento e frequência de ressonância f_r 3,16 MHz.

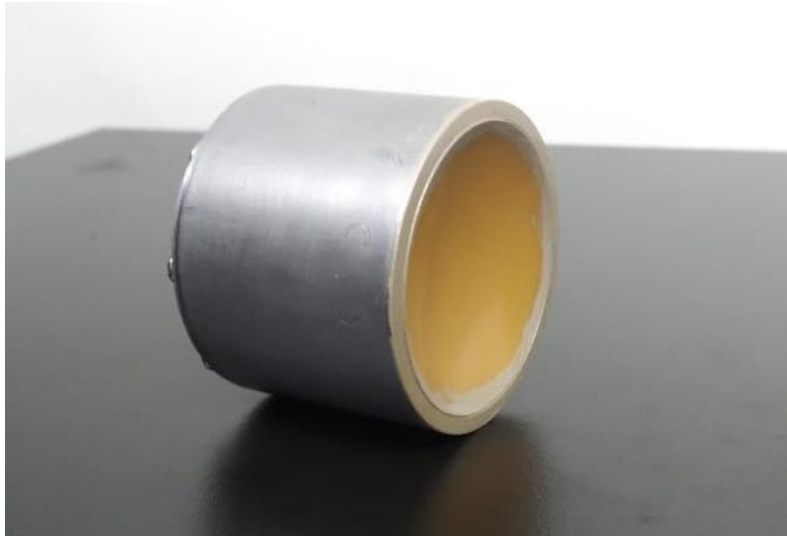


Figura 3-5: Foto do transdutor ultrassônico focalizado utilizado nos experimentos de APE. Este transdutor foi desenvolvido no próprio laboratório a partir de um disco de PZT 4 de formato semiesférico com diâmetro de 40,0 mm, com um foco a 50 mm de comprimento e frequência de ressonância f_r 3,16 MHz.

3.5 AQUISIÇÃO DOS SINAIS

Para a aquisição dos sinais acústicos de baixa frequência foi utilizado um hidrofone com banda de aquisição na faixa de 0,3 kHz a 80,0 kHz com sensibilidade média de 157 dB/V/ μ Pa (modelo ITC 6050C, *International Transducer Corporation*[®], Santa Barbara, EUA), uma foto do hidrofone pode ser vista na figura 3-6. O hidrofone foi escolhido de modo que sua banda de aquisição compreende-se da melhor maneira possível as frequências componentes do sinal a ser detectado como previsto na figura 2-4 através da equação 2-17.



Figura 3-6: Foto do hidrofone modelo ITC 6050C utilizado nos experimentos ao lado de uma cédula de dólar para comparação de dimensões.

Em todos os experimentos, o hidrofone foi colocado ao redor do transdutor ultrassônico adotando como padrão as coordenadas polares onde R é a distância entre o hidrofone e a cerâmica e θ é o ângulo entre o hidrofone e o eixo axial do transdutor de ultrassom focalizado, a figura 3-7 ilustra a disposição do hidrofone em relação ao transdutor ultrassônico.

Os sinais foram digitalizados com um osciloscópio digital (modelo Agilent 3322^a, Agilent[®], Santa Clara, California, EUA) e salvos em um computador no formato *.dat.

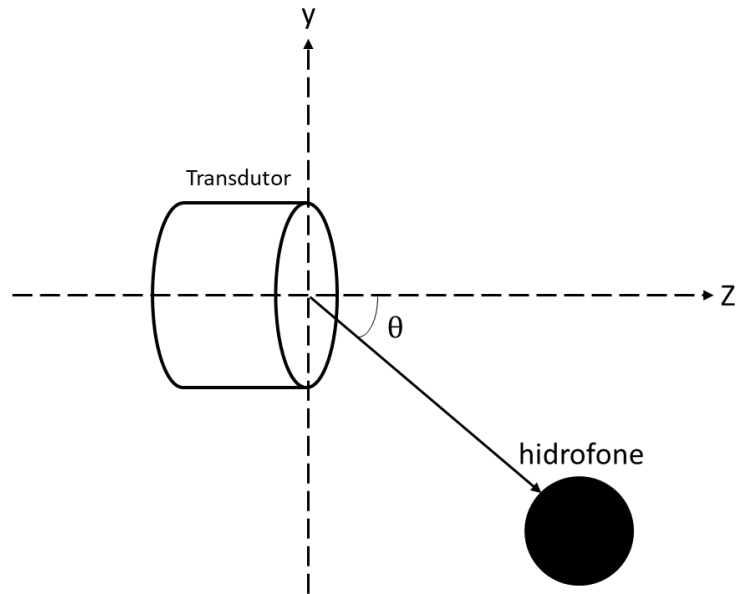


Figura 3-7: Disposição do hidrofone em relação ao transdutor ultrassônico. O hidrofone foi colocado ao redor do transdutor ultrassônico adotando como padrão as coordenadas polares onde R é a distância entre o hidrofone e a cerâmica e θ é o ângulo entre o hidrofone e o eixo axial do transdutor de ultrassom focalizado.

3.6 PROCESSAMENTO DOS SINAIS ADQUIRIDOS

Os sinais foram processados utilizando um algoritmo escrito em Matlab®. Uma janela do tipo Hamming (equação 3.1) foi utilizada com o intuito de se reduzir os artefatos de bordas gerados pelo janelamento [40].

$$J(t + 1) = 0,54 - 0,46 \cos\left(\frac{2\pi t}{n-1}\right) \quad (3.1)$$

Sendo J a função janela e n o tamanho da mesma.

Define-se um intervalo de tempo Δt contado a partir de um tempo t_0 . Como sabemos as distâncias entre a amostra o hidrofone e o transdutor calcula-se o tempo t_0

que corresponde ao tempo que a onda demora para viajar da sua origem (transdutor ultrassônico) até o hidrofone. Devido à existência de reverberações nas paredes do tanque acústico e nas estruturas que compõem o aparato experimental, o intervalo de tempo Δt deve ser apenas o suficiente para que possamos captar o sinal, porém minimizando o efeito das reverberações. Deste modo, o intervalo de tempo Δt foi escolhido como sendo o mais curto possível porém com tempo suficiente para conter ao menos dois períodos completos da frequência a ser observada.

Após ter feito o janelamento, uma transformada rápida de Fourier (FFT) era calculada a fim de se obter a resposta em frequência do sinal no intervalo janelado. As FFTs foram calculadas utilizando-se o algoritmo presente no próprio Matlab® e a partir do resultado da FFT foi calculado o espectro de potências do sinal tomando-se o módulo da multiplicação do resultado da FFT pelo seu complexo conjugado.

De posse do espectro de potências uma frequência era então escolhida (f_e) e o valor que o espectro de potências assumia para aquela frequência era o parâmetro utilizado para estimar as propriedades mecânicas da amostra. Um experimento foi realizado para esclarecer a escolha da frequência a ser utilizada e será mostrado no decorrer deste trabalho. A figura 3-8 mostra um diagrama que representa o passo-a-passo utilizado no processamento dos sinais.

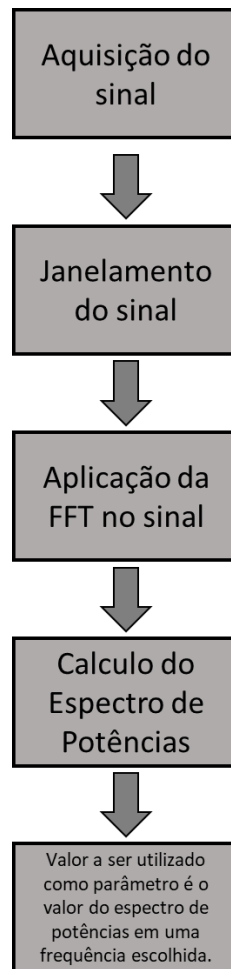


Figura 3-8: Diagrama contendo os passos para aquisição e processamento dos sinais adquiridos com a técnica APE

3.7 FORMAÇÃO DE IMAGENS PELA TÉCNICA APE

A formação de imagens utilizando a técnica APE é feita definindo-se um plano x,y , este plano corresponde a uma fatia do objeto que se deseja fazer a imagem, como mostrado na figura 3-9. Este plano é então discretizado, isto é feito levando-se em conta a resolução espacial que se deseja alcançar respeitando os limites impostos pela função espalhamento de ponto (*point spread function* – PSF). Utilizando o sistema de rastreo movimenta-se o foco do transdutor para pontos $P(x,y)$ do plano onde um sinal acústico é adquirido e processado da maneira descrita na seção 3.6. O valor obtido no

processamento é então associado à um valor em uma matriz correspondente ao plano no qual se irradiou a amostra. Por fim aplica-se um filtro de mediana com janela 5x5 para reduzir possíveis valores discrepantes em relação aos demais. A matriz resultante da origem então à imagem de APE.

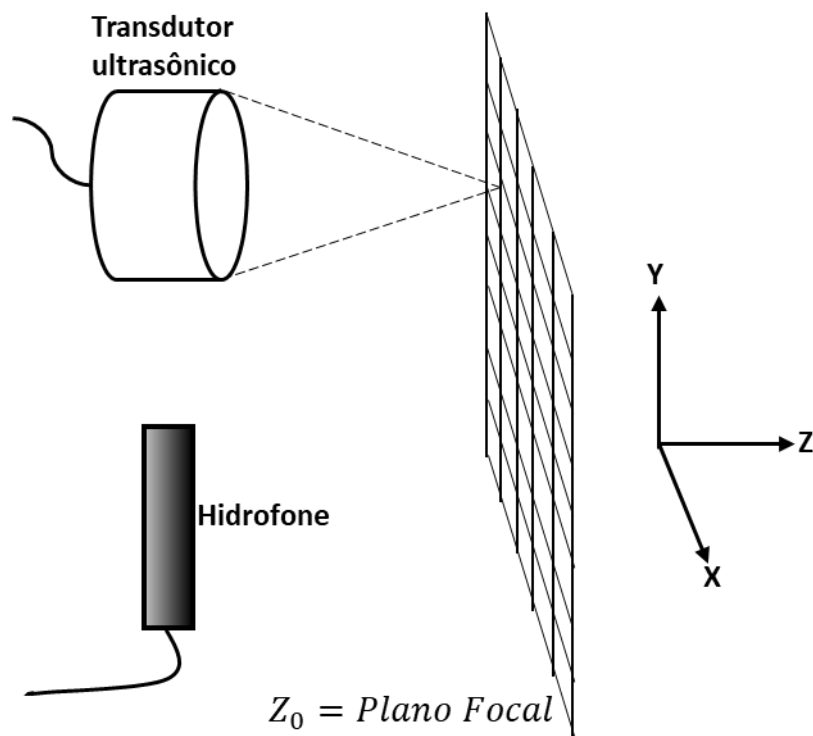


Figura 3-9: Plano utilizado na realização de imagens.

4. EXPERIMENTOS DE CARACTERIZAÇÃO E OTIMIZAÇÃO DO SISTEMA.

Neste capítulo são abordados experimentos de caracterização e otimização do sistema que se fizeram necessários ao longo do desenvolvimento do protocolo da técnica APE. Cada seção é dedicada a um experimento contendo a introdução, a metodologia utilizada e os resultados obtidos. Destacam-se entre os experimentos a calibração do transdutor utilizado, a caracterização do sistema de aquisição com destaque à influência do posicionamento do hidrofone de aquisição no sinal adquirido e também o contraste em função da duração do pulso de excitação e da frequência escolhida no processamento.

4.1 CALIBRAÇÃO DO TRANSDUTOR ULTRASSÔNICO FOCALIZADO

A calibração do transdutor ultrassônico focalizado descrito na seção 3.4 foi feita utilizando-se um hidrofone de agulha, um esquema do elemento sensor do hidrofone de agulha pode ser visto na figura 4-1 (sensor: 1861 (agulha de 1 mm), pré-amplificador: PA12001, Acoplador DC: DCPS244, Precision Acoustics®, Ltda., Dorchester, UK) no tanque acústico descrito na seção 3.1. Foi desenvolvido um código em Labview® que controlava o gerador de função via USB e uma placa de aquisição de sinais (NI-5122, National Instruments®, Austin, TX, EUA) para aquisições sincronizadas. O gerador de sinais gerava pulsos de 50 ciclos com 100 ms entre cada trem de pulsos. A frequência de amostragem foi de 50 MHz.

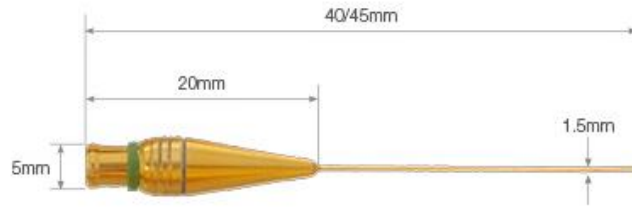


Figura 4-1: Esquema do elemento sensor do hidrofone de agulha.

Os valores de leitura em volts foram convertidos em pressão e intensidade considerando-se a sensibilidade do hidrofone em circuito aberto $S_H(f)$ e o ganho do pré-amplificador em função da frequência $G(f)$. Dessa maneira, temos que a sensibilidade do conjunto é dada por.

$$S_l(f) = G(f) \cdot S_H \cdot \frac{C_H}{C_H + C_A} \quad (4.1)$$

Sendo C_A e C_H as capacitâncias do amplificador e hidrofone, respectivamente. C_A , C_H , $S_H(f)$ e $G(f)$ são fornecidos pelo fabricante em tabelas. As unidades de sensibilidades são dadas em V/Pa para a pressão acústica P e $V/W/cm^2$ para a intensidade acústica instantânea I .

A intensidade espacial média de pico de pulso I_{SPPA} (SPPA do inglês *Spatial peak-pulse average*) foi calculada por meio da equação 4.2.

$$I_{SPPA} = \frac{\int \frac{P^2}{Z_a} dt}{T_p} \quad (4.2)$$

Sendo Z_a a impedância característica da água (1,40 MRayls) e T_p a duração do pulso.

A largura de banda de frequência foi definida pela equação 4.3.

$$B_f = 100 \frac{f_2 - f_1}{f_r} \quad (4.3)$$

Sendo f_r a frequência de ressonância (pico), f_2 e f_1 as frequências máxima e mínima da largura à meia altura ou FWHM (do inglês *full width at half maximum*).

4.1.1 Resposta em frequência do transdutor

Determinou-se a resposta em frequência do transdutor variando-se a frequência fornecida pelo gerador de funções. Determinou-se a curva de resposta em frequência calculando-se a curva média para cinco tensões ajustadas no gerador de funções (10, 20, 30, 40 e 50 mV). Para a geração das curvas de resposta considerou-se a tensão pico-a-pico obtida pelo hidrofone de agulha. Destas curvas fez-se ajustes da pressão em função da frequência. A frequência de ressonância encontrada foi de 3,16 MHz e largura de banda percentual de 7,6% (3,04-3,28 MHz). A curva de pressão normalizada em função da frequência pode ser vista na figura 4-2.

Conforme mostrado na figura 4.2, a largura de banda em frequência do transdutor focalizado é pequena, típico dos materiais piezoelétricos (Lead Zirconate Titanate) desenvolvido pela Boston Piezo-Optics. Essa pequena largura de banda em frequência, faz com que o transdutor tenha características excelentes para gerar pulso ultrassônico de alta intensidade.

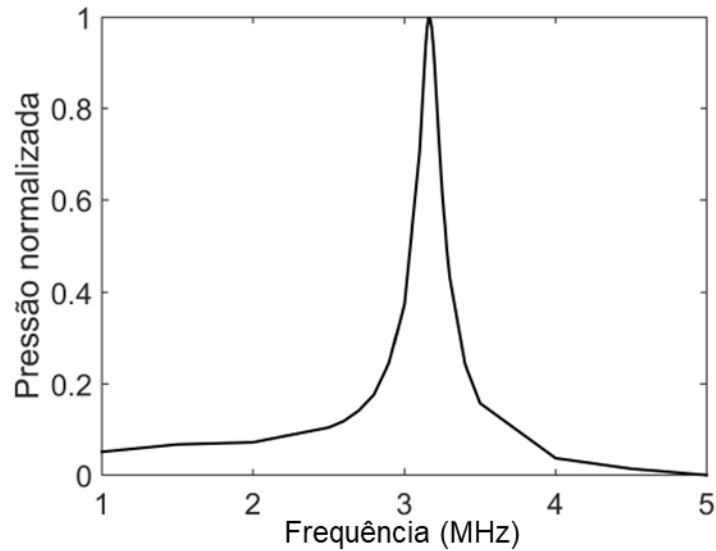


Figura 4-2: Resposta em frequência do Transdutor ultrassônico utilizado nos experimentos. A frequência de ressonância encontrada foi de 3,16 MHz e largura de banda percentual de 7,6% (3,04-3,28 MHz).

4.1.2 Mapeamento da pressão no foco do transdutor.

Para mapeamento da pressão no foco do transdutor um algoritmo em Labview® foi feito com o intuito de controlar os sistemas robóticos de modo que se fizesse uma varredura em duas dimensões movimentando o hidrofone para mapear o foco do transdutor e obter-se as resoluções lateral e axial do mesmo (FWHM). A área de varredura foi de 4 x 30 mm para o perfil axial e de 40x40 mm para o perfil lateral. A resolução utilizada foi de 0,25 mm tanto em x quanto em y. A distância focal do transdutor foi determinada pela largura à meia altura da pressão máxima média obtida nessas varreduras.

Na figura 4-3 pode-se ver uma imagem feita dos planos dos perfis axial e lateral no foco do transdutor e na figura 4-4 os perfis axial e lateral respectivamente.

A resolução do foco no eixo axial foi de 21,6 mm. A resolução lateral do foco foi de 1,5 mm como pode ser visto na figura 4-3. A distância focal do transdutor foi de 50,25 mm.

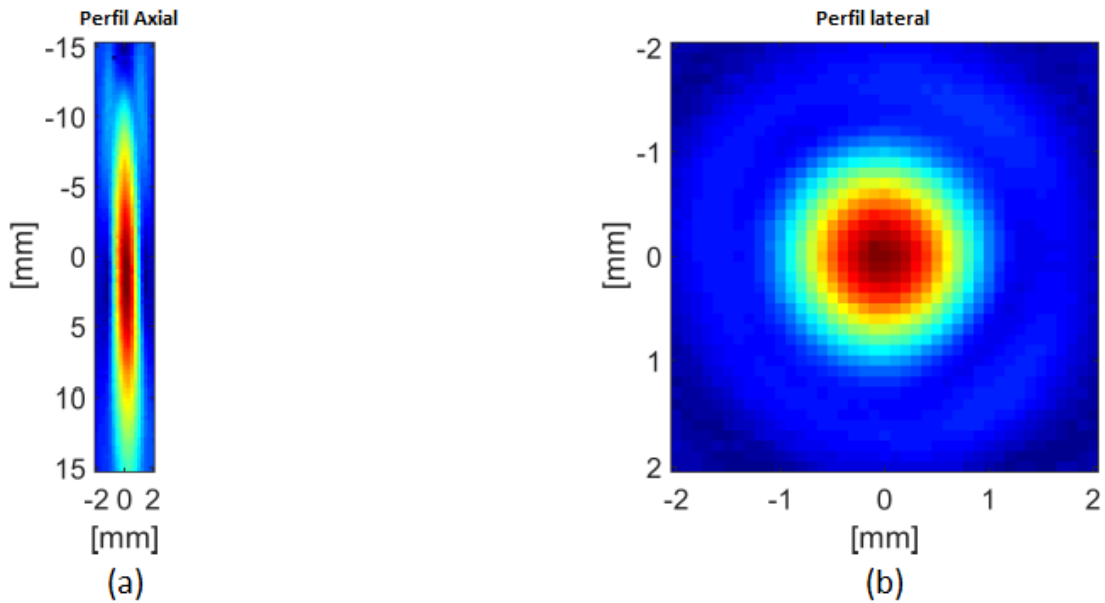


Figura 4-3: (a) Imagem obtida por varredura do perfil Axial do foco do transdutor de ultrassom. (b) Imagem obtida por varredura do perfil lateral do foco do transdutor de ultrassom. As imagens foram feitas com passos de 0,25 mm nas duas direções.

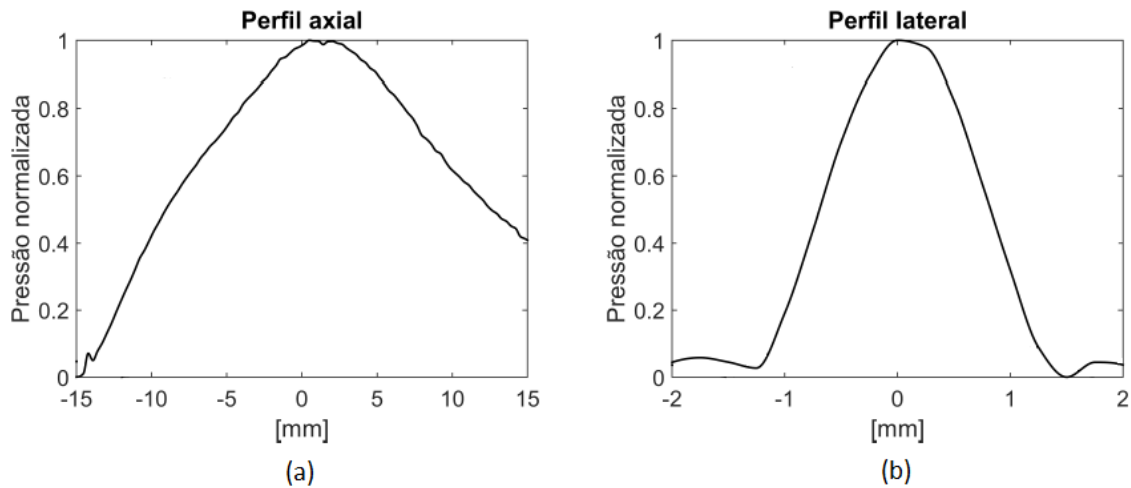


Figura 4-4: (a) Perfil axial do foco do transdutor. (b) Perfil Lateral do foco do transdutor.

4.1.3 Potência gerada no foco do transdutor em função da tensão

Existem na literatura alguns métodos para se medir a potência acústica de saída na faixa de ultrassom, métodos estes baseados em vários princípios físicos como térmicos, ópticos e puramente acústicos [41]. A norma IEC-61161 é a referência internacional dos procedimentos de medição cujo princípio físico é baseado na força de radiação acústica[42]. Um outro método desenvolvido e patenteado pelo próprio grupo de pesquisa (GIIMUS) consiste em medir a pressão de radiação acústica usando um transdutor que mede a força a partir do deslocamento de um alvo magnético que modifica o campo local. Este alvo fica próximo um sensor magneto-resistivo cuja voltagem de saída é proporcional à pressão acústica aplicada[43].

Nas medidas, foi utilizado um sistema de balança acústica (modelo Radiation Force balance, RFB, Precision Acoustics®, Ltda., Dorchester, UK). O sistema foi calibrado pelo fabricante de modo a converter as medidas de massa da balança em valores de potência acústica através de um software instalado em um computador no qual a balança está conectada via USB. A calibração foi feita para a banda de frequências que vai de 1 MHz à 20 MHz e para um alcance de potências que vai de 20 mW a 10 W e incerteza máxima de 7%. A figura 4-5 são fotografias da balança acústica utilizada.

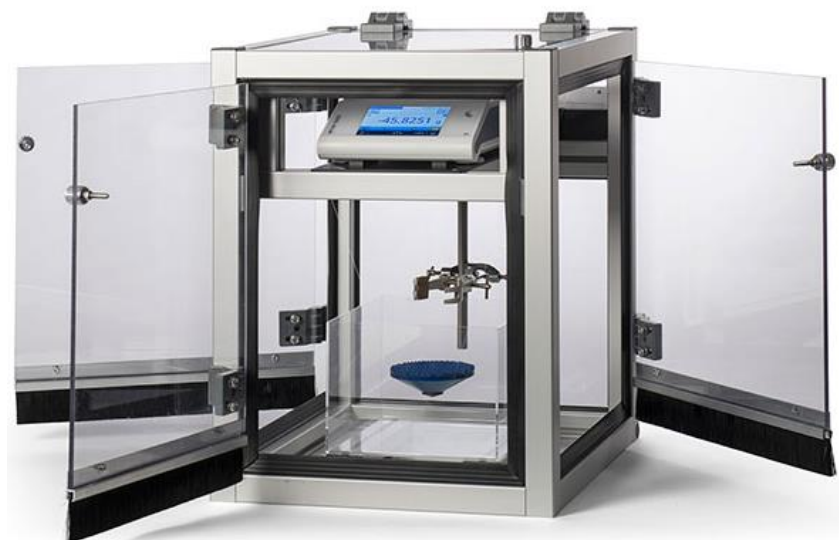


Figura 4-5: Fotografias da balança acústica utilizada nos experimentos de medição da potência acústica do sistema utilizado.

O sistema de balança acústica possui um absorvedor do qual deve-se posicionar o foco do transdutor ao qual se deseja medir a potência acústica. No experimento variou-se a tensão fornecida pelo gerador de funções de 0 V à 4 V com passos de 0,5 V, foram feitas 10 medidas para cada uma das tensões escolhidas. A figura 4-6 ilustra o arranjo experimental utilizado.

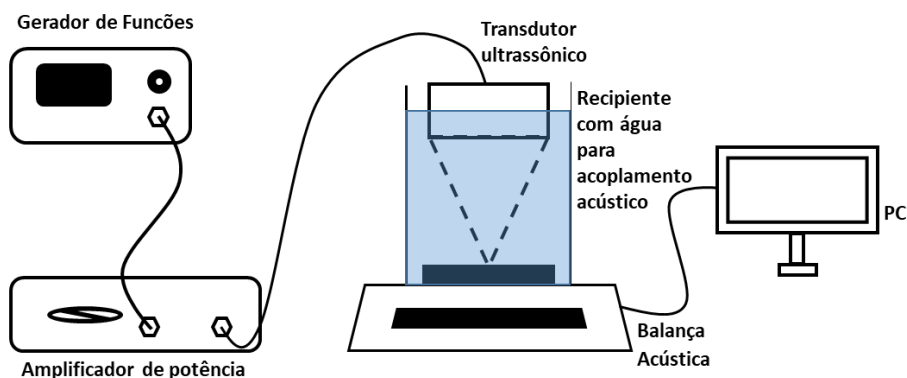


Figura 4-6: Arranjo experimental utilizado para as medidas de potência acústica fornecida pelo sistema. Utilizou-se uma balança acústica calibrada para converter os valores de massa medidos em valores de potência.

O gráfico da figura 4-7 demonstra a relação entre a potência do feixe acústico em função da amplitude de voltagem de excitação do sistema.

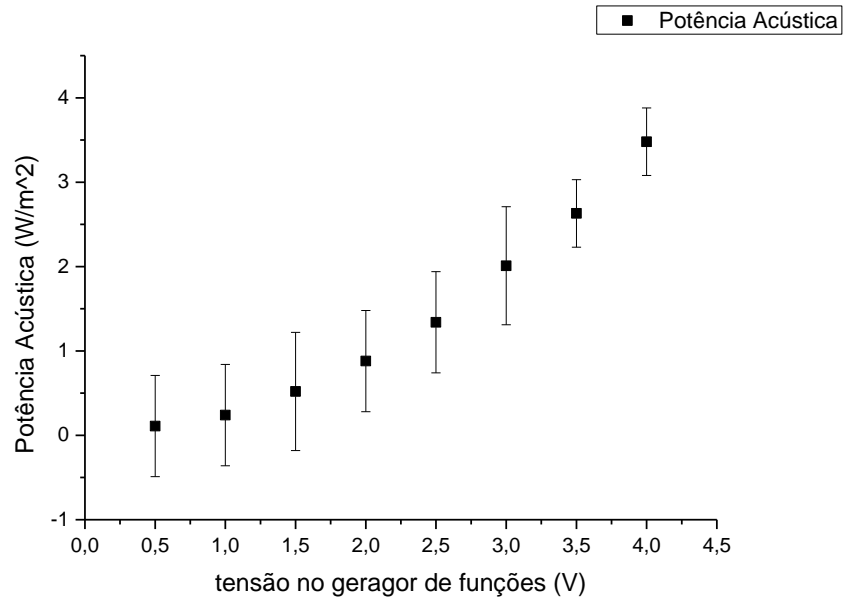


Figura 4-7: relação entre a potência do feixe acústico em função da amplitude de voltagem de excitação do sistema. O perfil da potência em função da tensão é quadrático como o esperado da potência acústica que é proporcional ao quadrado da intensidade que por sua vez é linearmente dependente da tensão aplicada no transdutor ultrassônico.

4.1.4 Sensibilidade do hidrofone em função da frequência

A sensibilidade do hidrofone ITC-6050C, utilizado para a aquisição dos sinais de APE, foi obtido a partir da calibração fornecida pelo fabricante para uma banda de resposta entre 300 Hz a 80 KHz quando alimentado por uma fonte de 24 V. Na figura 4-8 é apresentado a voltagem de saída do transdutor em função da frequência para uma pressão constante de 1 Pa.

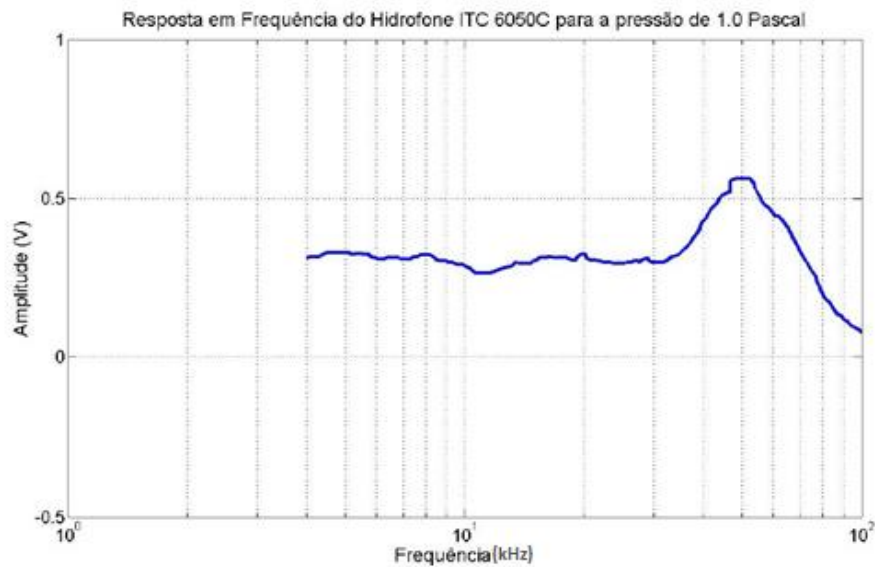


Figura 4-8: voltagem de saída do transdutor em função da frequência para uma pressão constante de 1 Pa (fornecido pelo fabricante).

Nota-se que a banda de maior sensibilidade do hidrofone está dentro da banda de frequências prevista pela equação 2.17 e representada na forma de espectro na figura 2-4, exceto para frequências muito baixas. No entanto, o hidrofone não tem sensibilidade para toda a banda frequências prevista, principalmente para a faixa de maior sensibilidade, que estaria entre 80 KHz e 110 KHz de acordo com o espectro simulado da figura 2-4. Tal hidrofone foi escolhido pois dentre os disponíveis era o que possuía banda de detecção mais próxima da banda de resposta dos experimentos a serem realizados.

É importante, também, notar que a sensibilidade do hidrofone ITC 6050C praticamente dobra para valores próximos da sua frequência de ressonância (50 kHz). Para frequências acima da ressonância, a sua sensibilidade cai abruptamente. Estas informações são importantes pois mostram que uma possível utilização de hidrofone

que possuem uma banda de frequência diferente podem abrir possibilidades de aplicação.

4.1.5 Verificação do contraste em função da duração do pulso de excitação.

A duração do pulso de excitação é um dos parâmetros mais importantes para a otimização do sinal obtido através da técnica APE, pois possui relação direta com a forma da onda de excitação que por sua vez é o parâmetro que define a banda de frequências de resposta como descrito na seção 2.2 deste texto.

Com o intuito de verificar a existência de contraste e a variação do mesmo com a duração do pulso de excitação foi realizado um experimento onde foi posicionada uma esfera metálica de 1 mm de diâmetro e densidade $7,28 \text{ g/cm}^3$ no foco do transdutor ultrassônico. A mesma foi irradiada com pulsos de durações variáveis (de 5 a 30 μs com passos de 1 μs) e intensidade de aproximadamente 3 MPa. Este procedimento foi realizado 32 vezes com o intuito de se obter um resultado médio. O sinal foi adquirido utilizando o sistema de detecção descrito na seção 3.5, com o hidrofone posicionado a uma distância de 20 cm da amostra formando um ângulo de 130 graus com o eixo de emissão do transdutor. Na figura 4-9 é apresentada uma fotografia do experimento. O mesmo procedimento foi realizado na ausência da esfera metálica. O processamento dos dados consistiu em filtragem, subtração do sinal de referência (sem amostra) e transformadas de Fourier. Na figura 4-10 pode-se ver uma imagem que traz o resultado desta subtração dos sinais com a esfera posicionada na região focal do transdutor e sem a esfera para cada frequência, em função da duração do pulso de excitação.

Verificou-se que o melhor contraste foi para a frequência de 52 kHz e com uma duração de pulso em torno de 13 μ s. A relação sinal ruído obtida para estes valores de frequência e duração de pulso foi de 19,61. Deste resultado conclui-se que a presença da esfera modifica o sinal, indicando que esta técnica tem potencial para realizar imagens ponderadas nas características inerentes ao objeto alvo. Além disso a banda de frequências do sinal obtido está de acordo com o previsto pela equação 2.17, reforçando que o sinal obtido no experimento segue os modelos de espalhamento não-lineares.

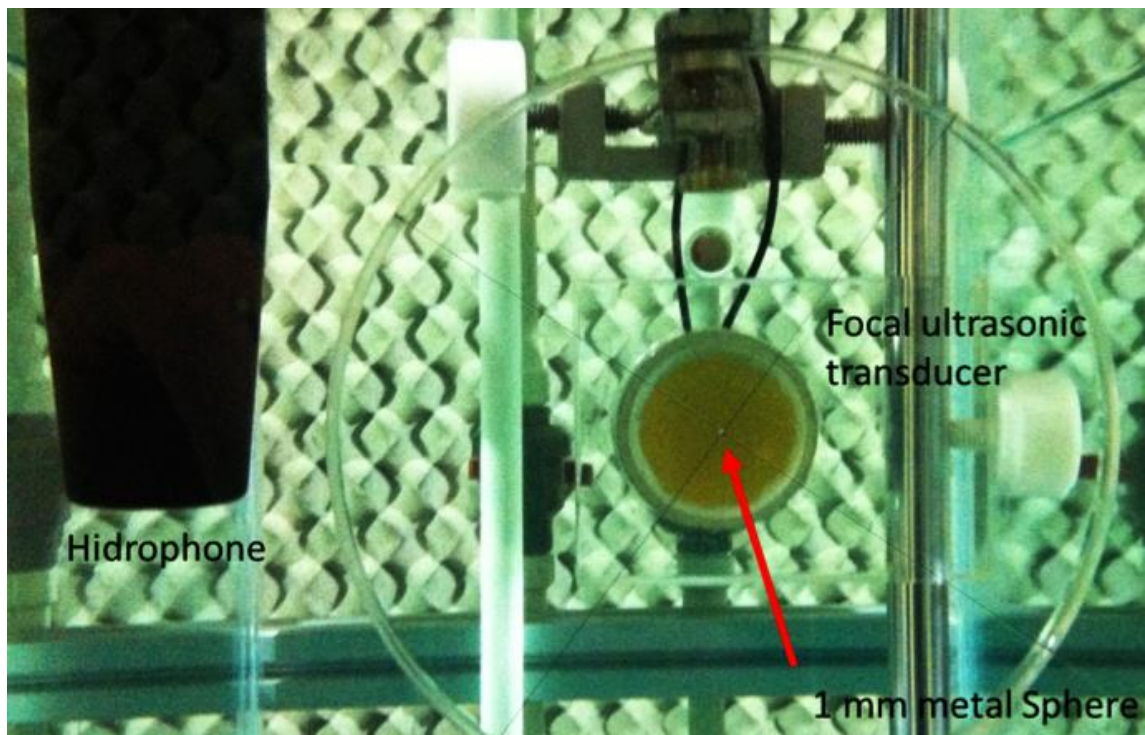


Figura 4-9: Fotografia do experimento de verificação do contraste em função da duração do pulso de excitação

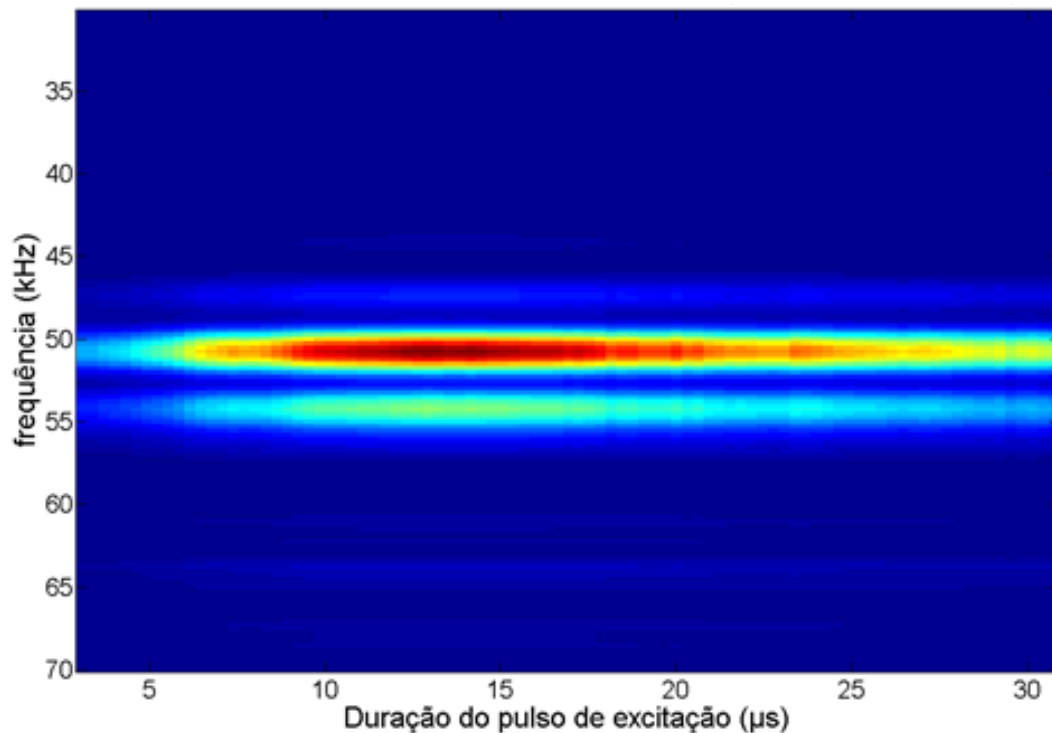


Figura 4-10: Resultado da subtração dos espectros dos sinais com e sem a esfera no foco para cada frequência identificada no espectro em função da duração do pulso de excitação.

4.1.6 Atenuação da onda acústica de baixa frequência em função da distância entre a amostra e o hidrofone.

A interação de uma onda acústica com uma esfera metálica da origem à um sinal espalhado de maneira não-linear[26]. com um intuito de verificar o decaimento do sinal de resposta em função da distância um experimento foi realizado onde afastou-se o hidrofone de leitura da amostra e adquiriu-se a amplitude média da onda de resposta em função da distância.

Como objeto espalhador foi utilizada uma esfera de aço de densidade $7,28 \text{ g/cm}^3$ e diâmetro de 1 mm. Irradiou-se a mesma com pulsos de duração de $15 \text{ } \mu\text{s}$ e intensidade de aproximadamente 3 Mpa. Realizaram-se medidas para um ângulo entre o hidrofone

e o eixo de emissão do transdutor ultrassônico de $\Theta=0^\circ$ e com as distâncias entre a esfera metálica e o hidrofone variando de 15 cm a 35 cm em passos de 1 cm. Para cada aquisição, o hidrofone foi afastado da amostra de modo a se obter a amplitude do sinal emitido da amostra a diferentes distâncias. Este procedimento foi realizado 10 vezes e o valor médio para cada distância foi calculado.

A figura 4-11 mostra a amplitude do pico em 52KHz para cada distância entre a esfera metálica e o hidrofone de aquisição. A linha em vermelho representa um ajuste da forma $\ln(r) / r$ que corresponde ao decaimento esperado para uma onda gerada a partir de uma interação não linear. Para um deslocamento do hidrofone de 20 cm (de 15 cm para 35 cm) o sinal da APE reduziu-se aproximadamente 15%.

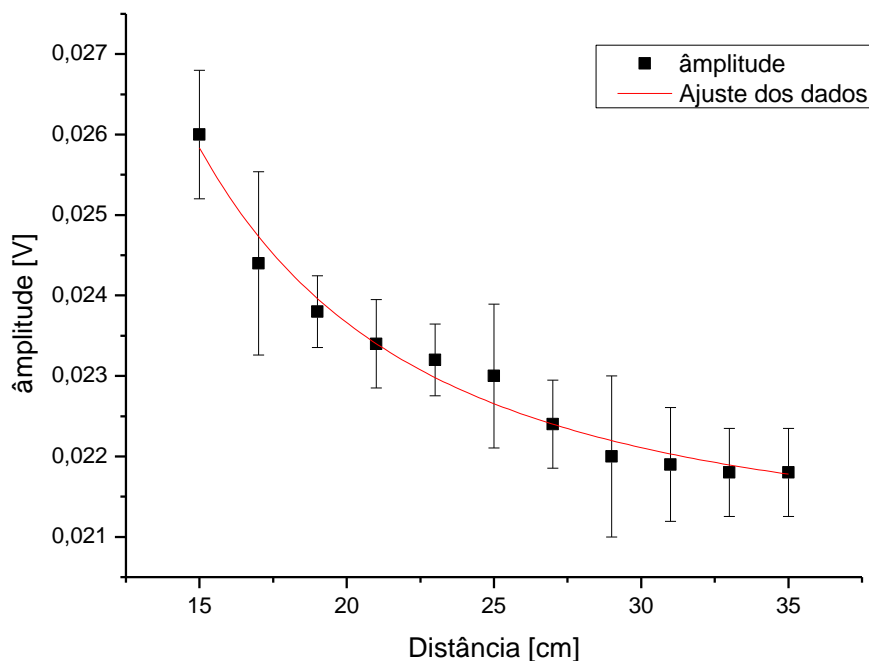


Figura 4-11: Perfil de decaimento de amplitude pico a pico do sinal APE na frequência de 52KHz para diferentes distancias entre a esfera e o hidrofone. A curva em vermelho representa um ajuste dos dados experimentais para uma função do tipo $\ln(r) / r$.

4.1.7 Avaliação do sinal da APE em função do ângulo de posicionamento do hidrofone de detecção.

Ao realizar experimentos no interior do tanque acústico foi notada a importância não apenas da distância entre o hidrofone de detecção e a amostra, mas também a da posição angular do hidrofone em relação ao eixo de emissão do transdutor ultrassônico. Percebeu-se que o sinal obtido quando o hidrofone era posicionado ao lado da amostra por exemplo era muito diferente de quando o hidrofone era posicionado na frente da amostra. Com o intuito de se quantificar tais diferenças um experimento foi realizado onde se verificou o contraste obtido através da técnica APE em função do ângulo de posicionamento do hidrofone.

Para tal, utilizou-se novamente a esfera de aço de densidade $7,28 \text{ g/cm}^3$ e diâmetro de 1 mm como amostra. Irradiou-se a mesma com pulsos de duração de 15 μs e intensidade de aproximadamente 3 Mpa. O hidrofone de detecção foi posicionado em um suporte preso a um goniômetro de fabricação no laboratório de modo que se pudesse variar o ângulo no qual o sinal fosse adquirido sem variar-se a distância entre o hidrofone e a amostra que foi de 10 cm. Foram adquiridos sinais para ângulos variando de $\theta=0^\circ$ à $\theta= 150^\circ$ graus com passos de 5° . Os sinais adquiridos foram processados da forma descrita na seção 3.6 deste texto e para cada ângulo um valor foi obtido. O mesmo procedimento foi repetido, porém sem a esfera metálica como espalhador, os sinais obtidos com e sem a esfera foram subtraídos e a esse valor estamos chamando de contraste. A figura 4-12 mostra um esquema do posicionamento do hidrofone em

relação à amostra e o transdutor de excitação e a figura 4-13 uma foto do aparato experimental utilizado.

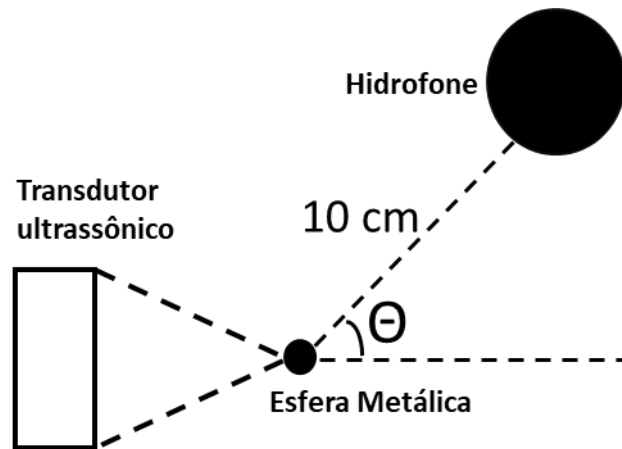


Figura 4-12: esquema do posicionamento do hidrofone em relação à amostra e o transdutor de excitação.

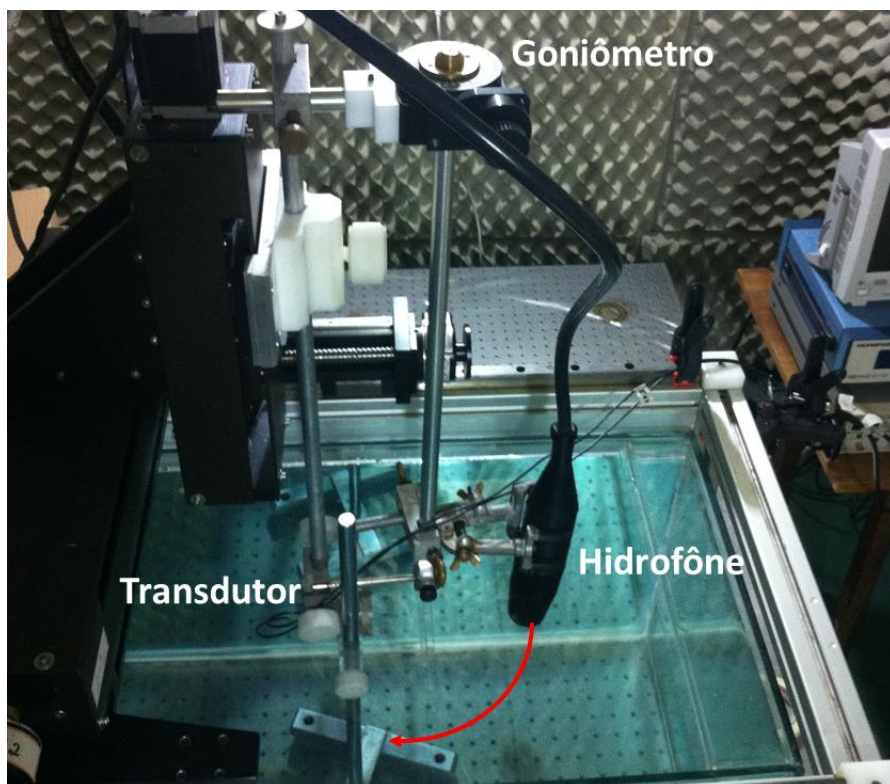


Figura 4-13: aparato experimental utilizado no experimento de sinal em função do ângulo de posicionamento do hidrofone. Nela pode-se ver que o suporte que sustentava o hidrofone possuía um goniômetro capaz de controlar a anulação em relação à amostra e o transdutor ultrassônico.

Na figura 4-14 pode-se observar os resultados obtidos de contraste em função do ângulo de aquisição em um gráfico em coordenadas polares. Os resultados mostraram que o contraste foi máximo para um ângulo de zero $\theta = 0^\circ$ e mínimo para ângulos próximos de $\theta = 90^\circ$, porém para valores próximos de $\theta = 150^\circ$ graus o contraste volta a aumentar isto é importante pois para a maioria das aplicações não é interessante utilizar posições de hidrofone próximas a $\theta = 0^\circ$ pois isso faz com que o hidrofone fique encoberto pela amostra. Por este motivo, assumiu-se como posição padrão para o hidrofone o ângulo de $\theta = 150^\circ$ no qual se obteve um bom contraste sem que se tivesse o problema de posicionar-se o hidrofone atrás de eventuais amostras.

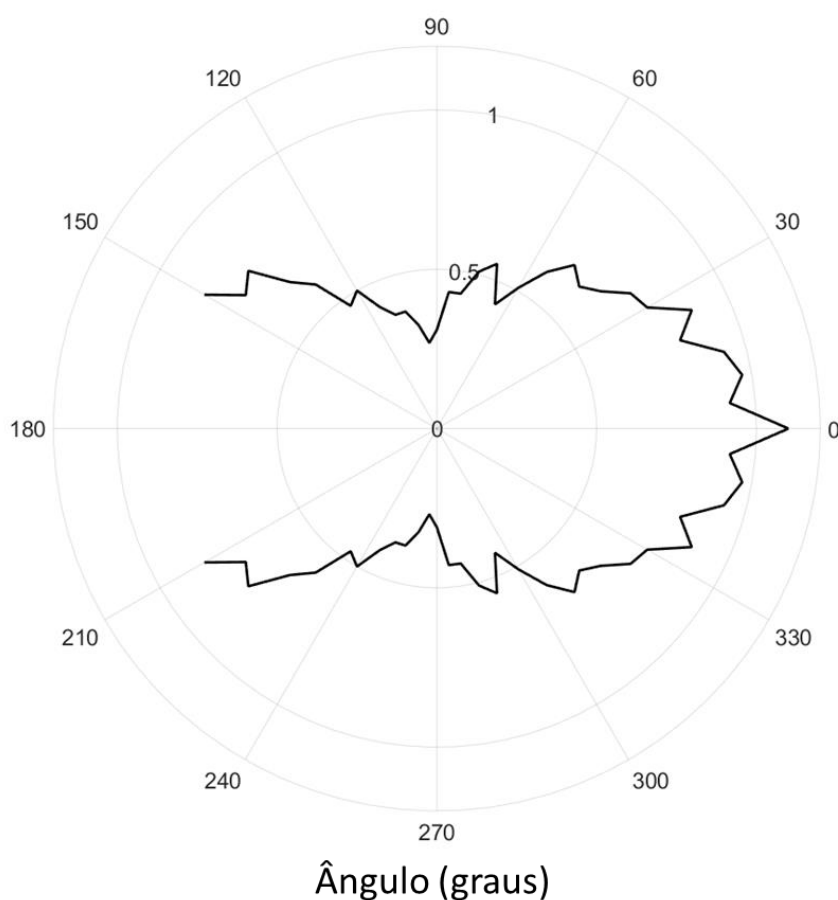


Figura 4-14: resultados obtidos de contraste em função do ângulo de aquisição em um gráfico em coordenadas polares.

4.1.8 Determinação da resolução lateral do sistema

Com o intuito de determinar a resolução lateral do sistema (que tem relação com a Função de espalhamento pontua do sistema) amostras compostas de fios de nylon de diferentes espessuras foram preparadas em um suporte de modo a determinar a menor estrutura que se podia resolver. A figura 4-15 mostra um esquema do aparato experimental utilizado. Foram dispostos em um suporte de acrílico com dimensões de 10x10 cm fios de nylon com as seguintes espessuras: 0,57 mm, 0,42 mm, 0,25 mm e 0,14 mm. O foco do transdutor ultrassônico percorreu os fios transversalmente ao longo da direção X de modo a gerar o perfil transversal dos mesmos. O tamanho do passo dado pelo sistema de rastreo entre cada aquisição foi de 12,5 μm , que é o menor possível no sistema utilizado, ao longo de 1 mm.

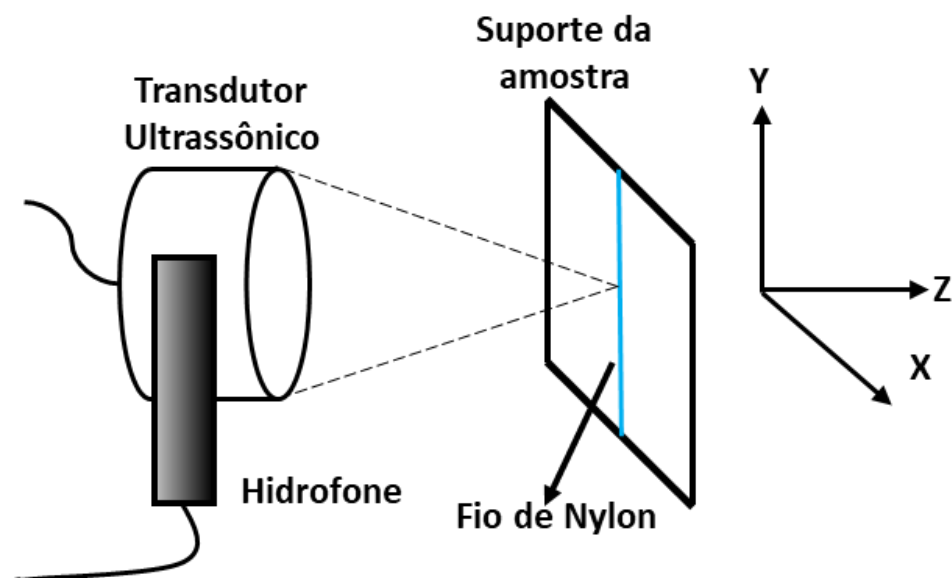


Figura 4-15: Esquema representando o aparato experimental utilizado para se determinar a resolução lateral da APE.. Uma aquisição de sinal foi feita a cada 12,5 μm ao longo de 1 mm na direção x.

Na figura 4-16 observa-se o perfil transversal dos quatro fios analisados e na tabela 4-1 os valores de SNR e a largura à meia altura (FWHM) obtidos para cada fio. É possível notar que o menor fio detectado foi o de 0,25 mm de espessura, porem a largura à meia altura obtida para o mesmo foi de 0,4 mm. Essa diferença entre resolução lateral da técnica e a espessura do alvo, e devido a influência da largura do pulso de ultrassom na região focal, que é da ordem de 0,8 mm. Este experimento mostrou que a técnica APE é capaz de detectar estruturas individuais de tamanho próximo à 250 μm , permitindo assim a sua aplicação na detecção de estruturas pequenas como microcalcificações.

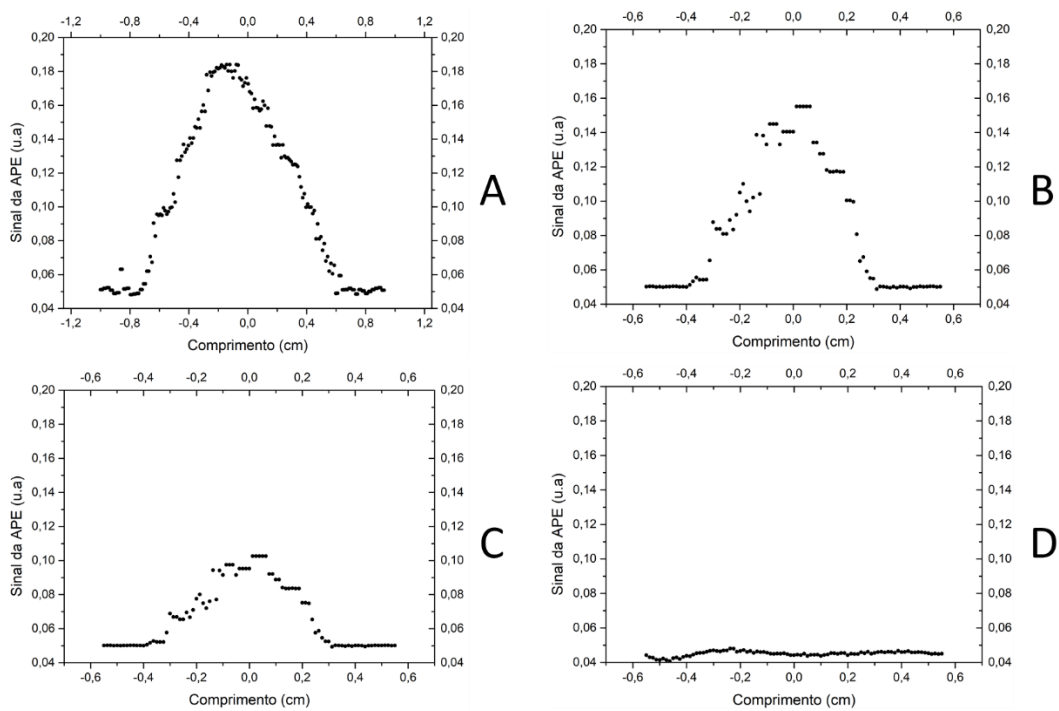


Figura 4-16: Perfil transversal de cada um dos fios analisados. (a) corresponde ao perfil transversal do fio de 0,57 mm. (b) corresponde ao perfil transversal do fio de 0,42 mm. (c) corresponde ao perfil transversal do fio de 0,25 mm. (d) corresponde ao perfil transversal do fio de 0,14 mm.

Tabela 4-1: FWHM e SNR obtidas para cada um dos fios utilizados. O símbolo (*) indica que não foi possível determinar o valor.

Diâmetro do fio (mm)	FWHM (mm)	SNR
0,57	0,8	0,4
0,42	0,4	3,0
0,25	0,4	2,1
0,14	*	1,1

5. CARACTERIZAÇÃO DE TECIDOS MOLES

5.1 INTRODUÇÃO

5.1.1 Elasticidade dos materiais.

A elasticidade de um material descreve a sua capacidade de retornar à sua forma original depois de ser deformado. Fluidos apenas resistem em mudanças de volume, e não de forma, por tanto os mesmos possuem apenas elasticidade volumétrica. Sólidos resistem a mudanças no volume e também a mudanças de forma, pois possuem a chamada elasticidade de cisalhamento (que dá origem ao módulo de cisalhamento) além da elasticidade volumétrica.

Para um sólido homogêneo e isotrópico, a razão entre a tensão e a deformação é uma constante, chamada de módulo de elasticidade. Três dessas constantes são comumente usadas para definir a elasticidade de dado material:

Módulo de Young (elasticidade longitudinal), $E = (\text{tensão})/(\text{deformação})$.

Módulo de cisalhamento, G .

Módulo volumétrico (elasticidade volumétrica), K

Quando uma tensão é aplicada à um material, sua largura pode se contrair à medida que seu comprimento se estende. Este comportamento é definido por uma constante chamada de coeficiente de Poisson, que é dado por:

$$\sigma = \frac{\text{Contração lateral por unidade de largura}}{\text{Extensão longitudinal por unidade de comprimento}}$$

Essas quatro constantes (G, E, σ, K) estão relacionadas por meio das seguintes equações;

$$G = \frac{E}{2(1+\sigma)} \quad 5.1$$

$$K = \frac{E}{3(1-2\sigma)} \quad 5.2$$

5.1.2 Elasticidade dos tecidos biológicos.

Existem cinco tipos de tecidos moles comumente encontrados no corpo humano. Eles são: Tecido epitelial, composto de células firmemente presas às outras de modo a formar camadas contínuas que servem como revestimento de estruturas e órgãos; Tecido conectivo, constituído de colágeno, que dá suporte e ajuda na estrutura do corpo; Tecido parenquimáticos, que é o tecido funcional dos órgãos; Tecido muscular, composto de células com a habilidade de se contrair em resposta a impulsos elétricos; e tecido nervoso, que possui a habilidade de gerar e conduzir sinais elétricos. As propriedades mecânicas de tecidos não podem ser realisticamente descritas em termos de aglomerados de tipos de células homogêneas, os tecidos possuem uma organização microscópica e macroscópica que precisa ser levada em consideração.

Tecido	Tipo	E (kPa)	Referência	
Mamário	Não-especificado	29	[44]	
		21–23	[45]	
	adiposo	19	[46]	
		1.9	[47]	
	Carcinoma Ductal	25	[46]	
		<i>in situ</i>	12	[47]
	glandular	33	[46]	
		Fibroso	110	[46]
			1.8	[47]
		Carcinoma invasivo	93	[46]
Colo do útero	Não-especificado	30–90	[48]	
Rim	Não-especificado	10	[49]	
		6	[45]	
Fígado	Não-especificado	13	[50]	
		10–17	[51]	
		7–10	[45]	
			1–3	[52]
			0.4–1.7	[53]
	normal	10	[22]	
		0.6–1.1	[54]	
	Nodular Focal	1.1–2.5	[54]	
		Hiperplasia		
	Hepatite Crônica	35	[50]	
	Cirrose	52	[50]	
		1.1–4.9	[54]	
	Carcinoma VX2	0.3–0.9	[52]	
colangiocarcinoma		3–12	[22]	
Músculo	Não-especificado	14–16	[45]	
		10–40	[52]	
		7–57	[55]	
		1.2–1.8	[53]	
		intercostal	100	[22]
	cardíaco (sístole)	100	[56]	
	cardíaco (diástole)	10	[56]	
	Paralelamente as fibras	13	[57]	
	Perpendicularmente fibras	5.3	[57]	

	Carcinoma VX2	2–8	[52]
Próstata	Não-especificado	0.8–4.0	[52]
	normal	62–69	[46]
		17	[58]
	próstata benigna	36	[46]
	hipertrofia		
	carcinoma	100	[46]
		24	[58]
trombo	Não-especificado	8–38	[59]
utero	Não-especificado	30–90	[48]
	leiomioma	60–220	[48]

Tabela 5-1: : valores para o módulo de Young encontrados para os diferentes tipos de tecido moles.

Os valores para o módulo de Young encontrados para os diferentes tipos de tecido moles, listados na tabela 5-1, possuem uma variação considerável entre os valores publicados por cada autor, mesmo para tecidos do mesmo tipo. Algumas destas diferenças podem ocorrer devido a discrepâncias na forma de medida, ou também no tratamento matemático dos dados. Entretanto, é razoavelmente concluir que os valores típicos de módulo de Young são de aproximadamente 10 kPa para o parênquima, 20 kPa para músculos e 50 kPa para o tecido conectivo [60]

5.1.3 Materiais e métodos

Com o intuito de verificar a viabilidade da aplicação da técnica na caracterização de tecidos moles foi confeccionado um *phantom* simulando as características de rigidez de diferentes tecidos biológicos. O *phantom* foi feito de parafina gel com três inclusões

esféricas feitas do mesmo material, mas com diferentes densidades, resultando em inclusões com três diferentes módulos de Young. O objetivo foi produzir um *phantom* com inclusões de diferentes densidades, porém a mesma impedância acústica para que as mesmas possuíssem a mesma ecogenicidade na imagem modo-B. A figura 5-1 mostra a morfologia do *phantom*. As inclusões possuíam módulos de Young de 98 kPa, 27 kPa e 18 kPa. Esses valores de módulos de Young estão dentro da faixa encontrada para tecidos moles presentes no corpo humano tanto em tecidos sadios quanto em tumores e nódulos para os quais a técnica pode ser utilizada na caracterização, como pode ser verificado na tabela 5-1. Como possuem a mesma ecogenicidade, a hipótese era a de que inclusões não apareceriam na imagem de ultrassom convencional (modo-B). O objetivo deste experimento foi mostrar que a APE pode fazer imagens de tecidos isoecoicos além de demonstrar a capacidade da mesma caracterizar tecidos moles verificando a proporcionalidade da SNR encontrada com os módulos de Young das diferentes inclusões.

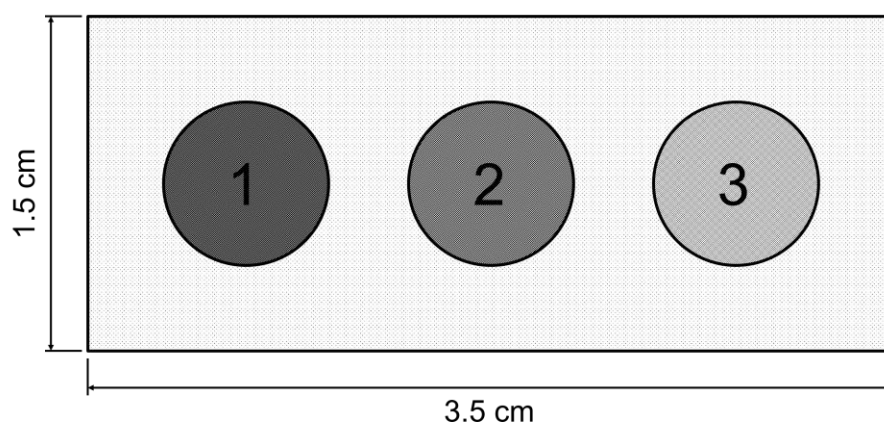


Figura 5-1: Morfologia do *phantom* e distribuição das inclusões. O corpo do *phantom* e as inclusões foram feitos de parafina gel com diferentes rigidezes. As inclusões 1, 2 e 3 possuem módulo de Young de 98 kPa, 27 kPa e 18 kPa, respectivamente.

As inclusões tiveram seus módulos de Young medidos em ensaios de compressão utilizando um texturômetro Ta.Xt Plus (modelo Stable Micro Systems, UK), com uma *probe* de 40mm de diâmetro, ver figura 5-2. Foi feita uma imagem do phantom através da técnica APE utilizando da maneira descrita no capítulo três deste texto e uma imagem de ultrassom convencional (modo-B) para comparação. O tamanho da área escaneada foi de 1,5 cm x 3,5 cm com uma resolução espacial de 0,25 mm.

Foram selecionadas, na imagem obtida através da APE, uma região de interesse (*region of interest* - ROI) em cada inclusão com uma janela de 10 x 10 pontos. Foi feito então um boxplot de tais valores de modo a mostrar a dependência do sinal de APE com o módulo de Young de cada inclusão.



Figura 5-2: texturômetro Ta.Xt Plus (modelo Stable Micro Systems, UK) utilizado nos ensaios de compressão, A probe utilizada foi a de 40mm de diâmetro.

5.1.4 Resultados

Na figura 5-9(a) observa-se a imagem gerada através da técnica APE, a figura 5-9(b) mostra a imagem de modo-B. A imagem feita através da técnica APE possui um bom contraste na região das inclusões enquanto a imagem modo-B não foi capaz de produzir contraste suficiente para identificar as inclusões. Este resultado mostra que a APE fornece informações que imagens tradicionais modo B, não conseguem.

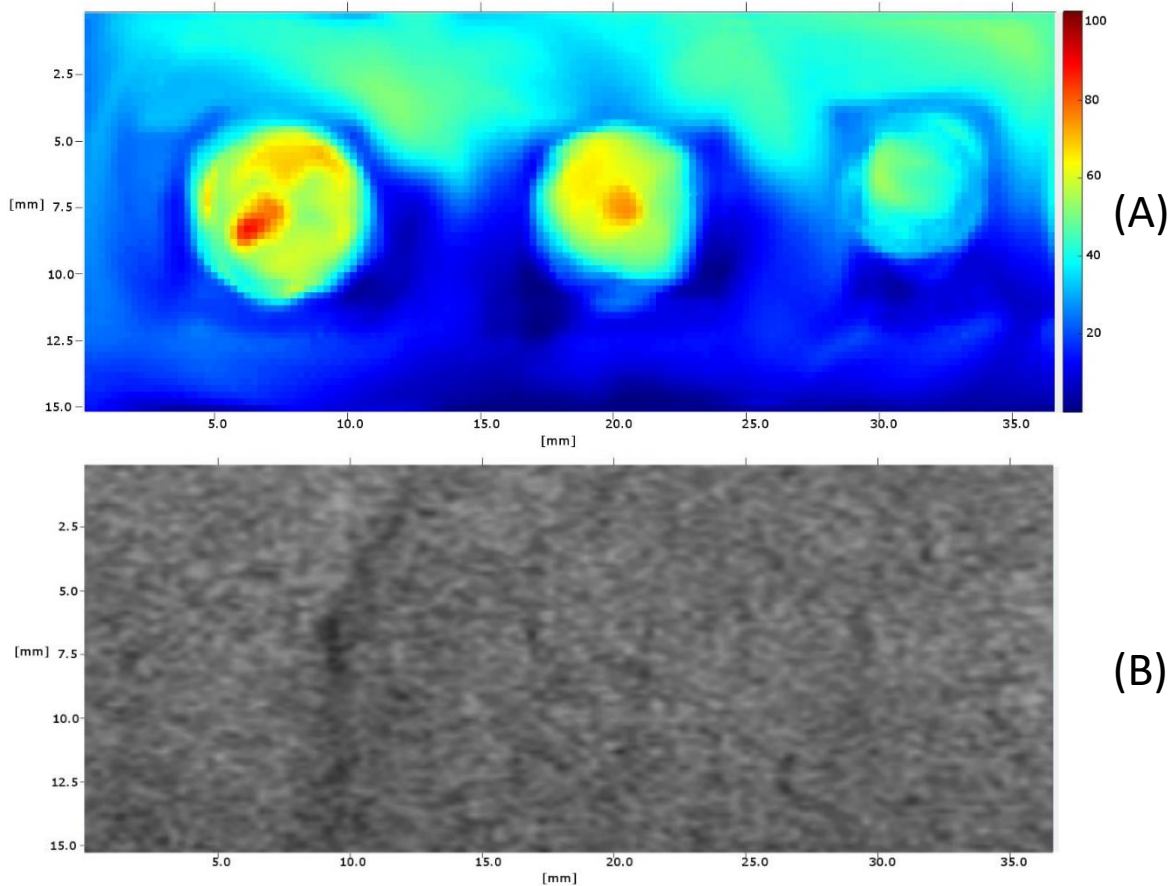


Figura 5-3: (a) Imagem de APE do phantom simulador de tecido biológico, na imagem pode-se observar as três inclusões isoecóicas com rigidezes diferentes. (b) imagem de modo-B do mesmo phantom, não é possível nela notar as três inclusões.

Na figura 5-4 pode-se observar o boxplot referente aos dados extraídos das regiões de interesse no interior de cada uma das inclusões e na tabela 5-2 observa-se os valores de módulo de Young obtidos nos ensaios de compressão e o valor médio do sinal obtido de cada inclusão pela técnica APE. Um teste de correlação entre os valores obtidos pela APE e o módulo de Young obtidos pelo teste de compressão obteve o valor de $R = 0,94$, demonstrando uma forte correlação entre os sinais. Embora esta análise tenha sido feita em apenas três amostras este resultado demonstra a capacidade da técnica de fornecer imagens ponderadas não apenas nas características morfológicas do tecido, mas também nas propriedades mecânicas do mesmo.

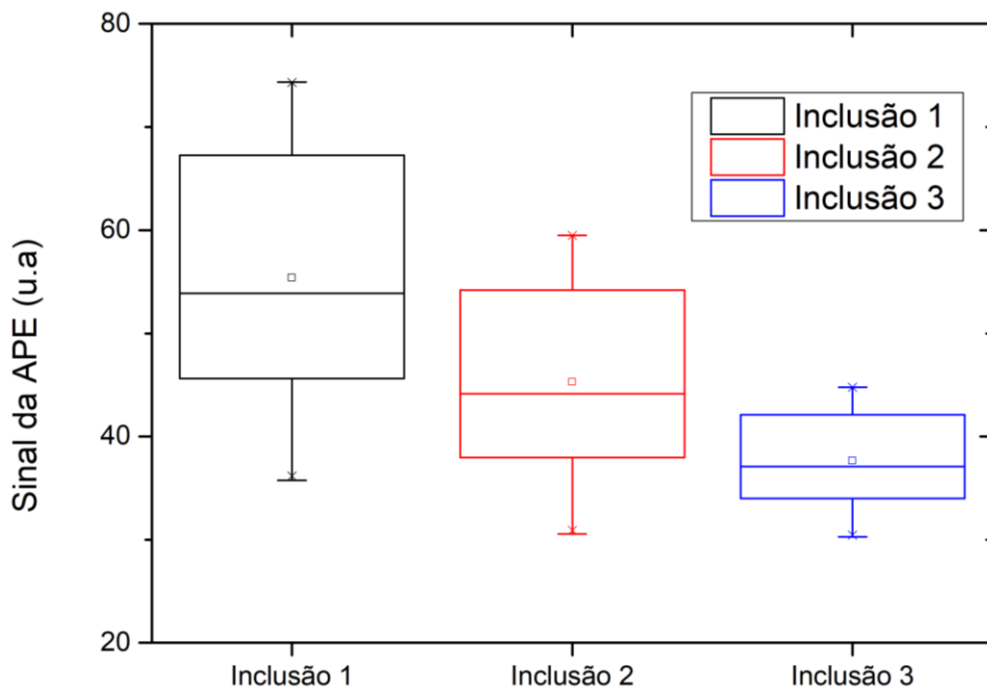


Figura 5-4: Boxplot contendo os valores referentes a uma ROI em cada inclusão.

Tabela 5-2: Valores médios de sinal da APE obtidos em uma ROI no interior de cada uma das inclusões e valores de módulo de Young obtidos através dos ensaios de compressão.

Inclusão	Sinal médio da APE (u.a)	E(kPa)
1	55 ±11	98±1
2	45 ±8	27±1
3	37 ±4	18±1

6. CARACTERIZAÇÃO DE TECIDO ÓSSEO

6.1 OSTEOPOROSE

A Osteoporose é uma doença capaz de causar alterações nas propriedades mecânicas de tecidos ósseos. É uma doença osteometabólica com uma grande prevalência na população mundial caracterizada por uma redução na massa óssea causando alterações na sua microarquitetura. [61]–[64]. A consequência mais importante da osteoporose é a redução na resistência mecânica dos ossos, aumentando assim o risco de fraturas. Desde 1994, a Organização Mundial de Saúde (OMS) definiu que o diagnóstico de osteoporose seria baseado na medida da densidade mineral óssea (do inglês *Bone Mineral Density*: BMD) [65]–[67]. A absorciometria por Duplo Feixe de

Raios X (do inglês *Dual Energy X-Ray Absorptiometry*: DXA) é o padrão ouro para medidas de densidade mineral óssea *in-vivo* [68]. A técnica DXA consiste em estimar a atenuação de dois feixes de raio X (um com alta e outro com baixa energia) pelo tecido ósseo. Entretanto, a DXA apenas detecta susceptibilidade a fraturas nos indivíduos com baixa massa óssea, porém observa-se a ocorrência de fraturas em pacientes com valores altos de massa óssea. Algumas técnicas estão disponíveis para a avaliação detalhada da microarquitetura óssea, mas eles são invasivos, muito demorados (como é o caso da Histomorfometria), são de alto custo e envolvem uma dose acentuada de radiação (como é o caso da tomografia computadorizada periférica de alta resolução). *In-vitro*, o padrão ouro para se medir a densidade mineral e se avaliar a microarquitetura óssea é o micro-CT [69].

6.2 TÉCNICAS ULTRASSÔNICAS NA CARACTERIZAÇÃO ÓSSEA

Para a caracterização do tecido ósseo, algumas técnicas não invasivas vêm sendo utilizadas. Técnicas como a análise vibracional e o ultrassom quantitativo (QUS) tem sido usadas para a obtenção de parâmetros mecânicos de ossos. Análise vibracional utiliza um martelo para gerar ondas vibracionais e medir as frequências de ressonâncias para mensurar as propriedades mecânicas dos tecidos ósseos [70]–[74]. Nas análises de QUS, as ondas de ultrassom emitidas por um transdutor em um lado do osso são transmitidas através dos mesmos e são medidas na outra superfície com um segundo transdutor e são utilizadas para determinar as propriedades mecânicas de tais ossos.[75]–[82]. Progressos recentes em QUS tem focado na extração de curvas de dispersão e na exploração de ondas multimodais de ossos longos para extrair a espessura e a rigidez

cortical dos ossos [83], [84]. Entretanto, tem sido difícil a aplicação das técnicas de análises vibracionais [85]–[87] e do QUS [77]–[81] na clínica médica devido ao impacto do tecido circundante ao osso nas medidas. As ondas vindas do osso e dos tecidos moles circundantes se misturam dificultando e até impossibilitando uma análise precisa dos resultados [78], [81]. Na análise vibracional, diferenças consideráveis acontecem tanto em magnitude quanto temporalmente quando se compara as análises feitas na presença e na ausência dos tecidos circundantes [87]. Bochude *et al.*, resumiu os efeitos do tecido circundante no QUS e demonstrou estimativas confiáveis de resistência óssea de *phantoms* de ossos calibrados usando um esquema de inversão baseado no modelo *free-plate* mesmo na presença do tecido circundante. Devido a essas dificuldades técnicas capazes de caracterizar ossos mesmo na presença do tecido circundante estão sendo extensivamente estudadas.

Em 2006, Azra Alizad, *et al.* [88], utilizou força de radiação acústica para estudar as mudanças na frequência de ressonância dos ossos devidas à mudanças nas propriedades mecânicas dos ossos causadas por fraturas. O método proposto ofereceu a vantagem de aplicar a força remotamente e diretamente ao osso evitando a interferência do músculo que circunda o osso. Similarmente, Callé, *et al.* [89] utilizou força de radiação acústica para gerar vibrações ao longo do tecido ósseo utilizando um hidrofone para capturar o sinal de resposta e uma imagem foi feita utilizando tais sinais.

6.3 EXPERIMENTO PARA VERIFICAR A APLICABILIDADE DA TÉCNICA APE NA OBTENÇÃO DE PARÂMETROS MECÂNICOS DE TECIDOS ÓSSEOS

6.3.1 Materiais e métodos

6.3.1.1 *Obtenção das amostras*

Este estudo foi realizado utilizando fêmures de camundongo obtidos de um estudo experimental feito previamente e aprovado pelo comitê institucional de cuidado e uso de animais da escola de medicina de ribeirão preto [90] [91], departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP) da Universidade de São Paulo (USP) (protocolo número 111/2011).

Com o intuito de verificar a aplicabilidade da técnica APE na caracterização do tecido ósseo, especialmente como técnica capaz de auxiliar no diagnóstico de osteoporose, um estudo foi feito em dois grupos de fêmures de camundongo: Grupo controle, contendo dez ossos e grupo osteoporótico com dez ossos submetidos a uma injeção intraperitoneal de tetracloreto de carbono (CCL₄) que induz doença hepática e que por sua vez induz a osteoporose.

Os camundongos usados no experimento tinham cinco semanas e pesavam aproximadamente 18 g. Os animais foram mantidos em gaiolas em uma sala com humidade e temperatura $23\pm 1^{\circ}\text{C}$ controladas e um ciclo claro/escuro artificial de 12 horas (luzes ligadas às 6 horas e desligadas às 18 horas). Os animais tinham acesso livre

a água e ração. Para induzir Osteodistrofia Hepática (OH) nos indivíduos pertencentes ao grupo osteoporótico, foram administradas injeções de tetracloreto de carbono, um intervalo de duas semanas após a administração das injeções foi respeitado de modo a consolidar-se a doença hepática. No final da décima semana os camundongos foram submetidos a eutanásia e os seus fêmures retirados para o estudo.

6.3.1.2 *Micro-CT das amostras.*

Cinco dos dez fêmures de camundongo de cada um dos grupos foram escaneados utilizando um sistema de micro-CT (modelo 1172; SkyScan[®], Kontich, Bélgica). Foram obtidos parâmetros estruturais dos ossos na porção distal dos fêmures, começando a 0,25 mm da placa de crescimento distal e cobrindo uma área de aproximadamente 1 x 1 mm. Os ossos foram escaneados em baixa resolução, com uma tensão de 55 kVp e corrente de 145 mA. Um *software (CT-analyzer software versão 1.13.2.1)* foi usado na para a obtenção dos parâmetros quantitativos. Os parâmetros do micro-CT foram expressos de acordo com a nomenclatura padrão da técnica [69]. Os parâmetros obtidos através do micro-CT foram: Volume ósseo/Volume trabecular (*Bone volume fraction:BV/TV*), que corresponde à razão entre o volume de massa óssea e o volume total observado ; Número trabecular (*Trabecular Number:Tb.N*), mediado número de trabéculas por unidade de comprimento; Espaçamento Trabecular (*Trabecular spacing:Tb.Sp*), distância média entre as trabéculas,, Largura trabecular (*Trabecular Thickness:Tb.Th*), largura média das trabéculas; Conectividade (*Connectivity:Conn*); grau

de conectividade das trabéculas; Densidade de conectividade (*Connectivity density:Conn.D*) e Grau de conectividade das trabéculas normalizado pelo volume total.

6.3.1.3 Aquisição dos sinais de APE

Utilizando o mesmo procedimento de aquisição de sinais descrito no item 3 cada um dos ossos teve a região distal irradiada. A figura 6-1 mostra a disposição espacial do transdutor ultrassônico e do hidrofone em relação a amostra. Cada um dos fêmures teve a sua parte distal irradiada de modo a produzir um sinal de resposta dependente de suas características mecânicas individuais.

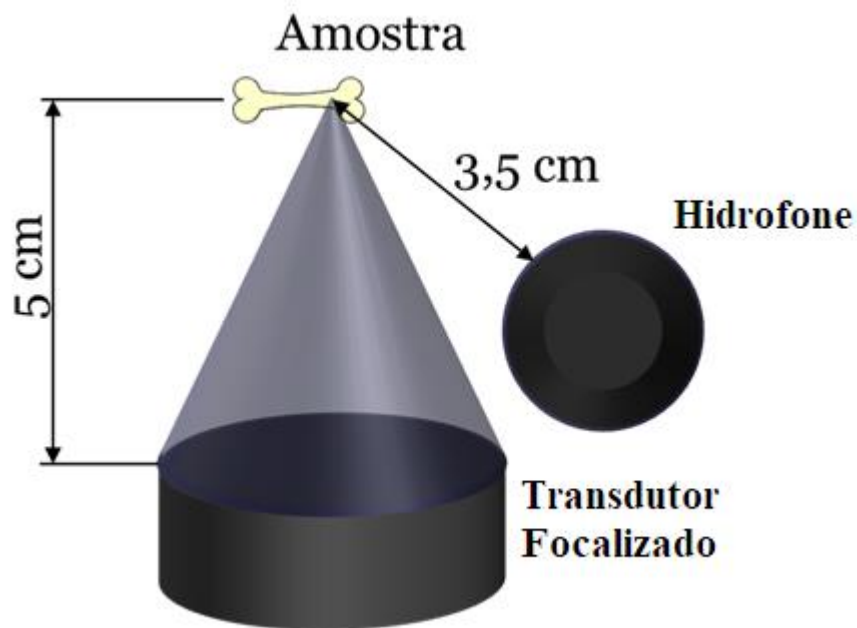


Figura 6-1: Disposição espacial do transdutor ultrassônico focalizado responsável pela emissão do sinal de excitação e do hidrofone de detecção responsável pela aquisição do sinal de resposta em relação a amostra.

6.3.1.4 *Análises estatísticas.*

Os resultados obtidos dos dois grupos foram comparados utilizando ANOVA. O teste de correlação de Spearman foi utilizado para determinar a correlação entre o sinal de APE e cada um dos parâmetros fornecidos pelo micro-CT. As análises estatísticas foram feitas utilizando o *software* R (versão 3.4.1). Um valor de p (p -value) menor do que 5% foi considerado para a significância estatística.

6.3.2 Resultados da técnica APE no diagnóstico de osteoporose.

Seguindo o protocolo descrito anteriormente para o grupo controle e para o grupo osteoporótico, os resultados do sinal de APE normalizados são mostrados na tabela 6-1. Os mesmos dados mostrados em um boxplot na figura 6-2. O teste ANOVA demonstrou que a técnica foi capaz de discriminar os dois grupos ($p < 0,01$), sugerindo que a aplicação da técnica APE no diagnóstico de osteoporose possui grande potencial.

Tabela 6-1: valores obtidos através da APE para os grupos controle e osteoporóticos.

Controle	Osteoporótico
5,38	4,13
4,78	3,53
4,59	3,05
4,46	2,76
4,42	2,44
4,05	1,91
3,96	1,52
3,88	1,51
3,84	1,21
3,79	1,00



Figura 6-1: Sinais de APE de cada um dos grupos. Em preto o grupo controle e em vermelho o grupo osteoporótico.

As tabelas 6-2 (a) e 6-2(b) mostram os sinais de APE normalizados pela amplitude e os parâmetros de micro-CT correspondentes para cada amostra para os grupos controle e osteoporóticos respectivamente.

Tabela 6-2 (a): Sinais de APE e micro-CT parâmetros para cada amostra do grupo controle

Grupo Controle							
Amostra	Sinal APE (u.a)	BV/TV (%)	Tb.Th (mm)	Tb.N (1/mm)	Tb.Sp (mm)	Conn	Conn. D
C1	4,42	15,17	0,06	2,52	0,16	349	143
C2	3,96	7,03	0,04	1,80	0,17	622	296
C3	3,84	9,32	0,05	2,31	0,14	565	268
C4	5,38	16,00	0,07	2,32	0,16	795	357
C5	4,59	11,07	0,05	2,46	0,22	785	320
Média	4,44	11,72	0,05	2,28	0,17	623	277
Desvio Padrão	0,61	3,82	0,01	0,28	0,03	183	81

Tabela 6-2 (b): Sinais de APE e micro-CT parâmetros para cada amostra do grupo Osteoporótico.

Grupo Osteoporotic							
Amostra	Sinal APE (u.a)	BV/TV (%)	Tb.Th (mm)	Tb.N (1/mm)	Tb.Sp (mm)	Conn	Conn. D
O1	4,41	11,76	0,05	1,74	0,24	314	140
O2	3,05	8,14	0,05	1,63	0,19	319	171
O3	1,51	7,39	0,06	1,56	0,22	314	152
O4	1,00	9,53	0,06	1,57	0,25	238	120
O5	4,13	16,92	0,05	1,89	0,19	628	267
Média	2,82	10,75	0,05	1,68	0,22	362	170
Desvio Padrão	1,53	3,83	0,01	0,12	0,02	136	51

A figura 6-2 mostra os gráficos de cada um dos parâmetros fornecidos pelo micro-CT versus os sinais de APE normalizados. A tabela 6-3 mostra os valores obtidos no teste de correlação de Spearman entre as variáveis. Os resultados obtidos no teste mostram uma forte correlação entre os sinais de APE com o número trabecular (*trabecular number*: Tb.N) e uma correlação moderada entre os sinais de APE e os parâmetros Espaço entre trabéculas (*trabecular spacing*:Tb.Sp) e densidade de conectividade (*connectivity density*: Conn.D). Tais resultados mostram para quais parâmetros mecânicos dos tecidos ósseos a APE pode ser sensível, em especial pode-se notar que a técnica foi sensível para o espaço entre as trabéculas e para o número trabecular que possuem relação direta com a porosidade dos ossos.

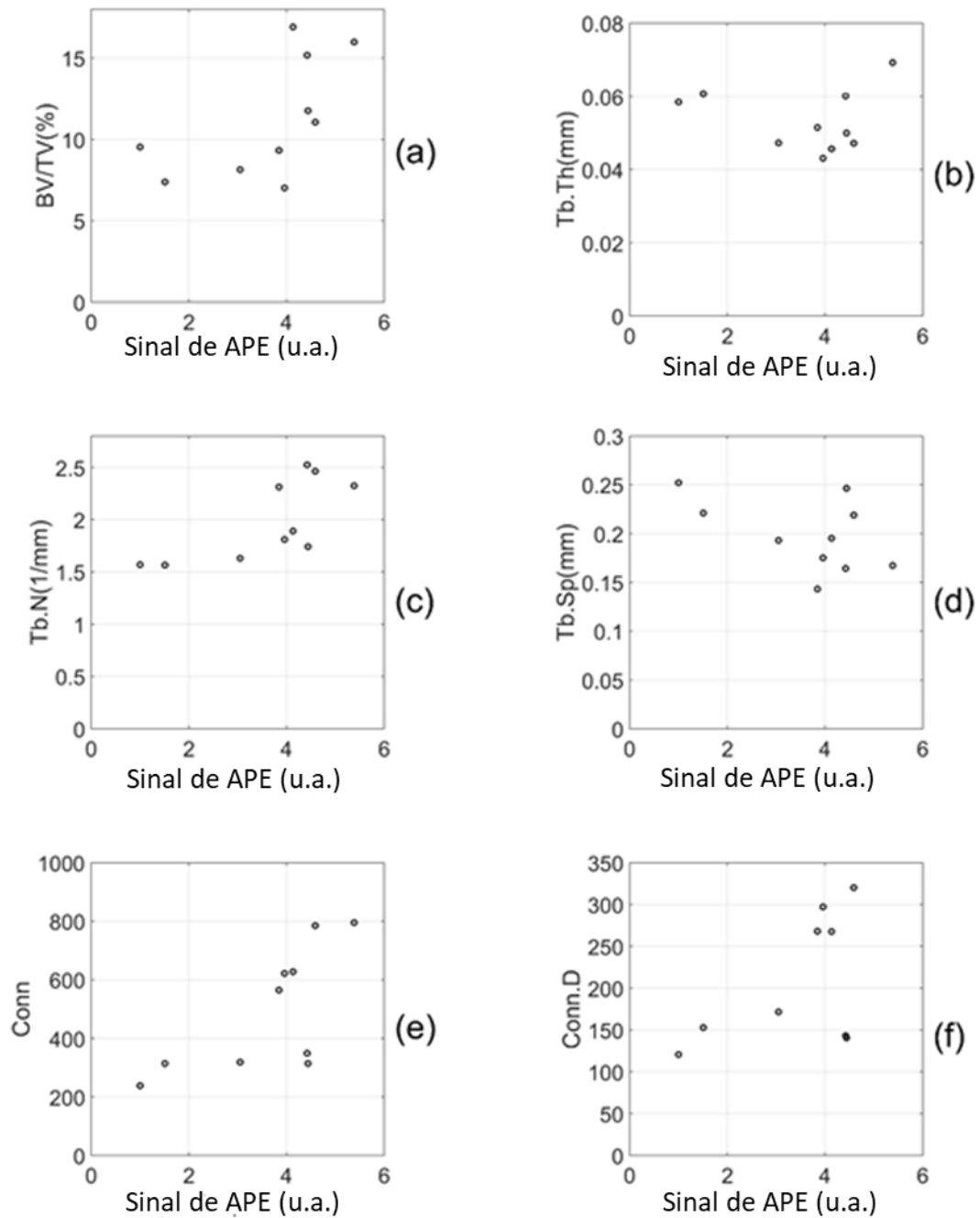


Figura 6-2: Sinal de APE para cada um dos ossos versus cada um dos parâmetros de micro-CT. (a) Sinal de APE vs. BV/TV; (b) Sinal de APE vs. Tb.Th; (c) Sinal de APE vs. Tb.TN; (d) Sinal de APE vs. Tb.Sp; (e) Sinal de APE vs Conn; (f) Sinal de APE vs Conn.D.

Tabela 6-3: Resultados dos testes de correlação de Spearman entre os parâmetros de micro-CT e o sinal de APE.

Parâmetro μCT vs Sinal APE	Correlação Spearman (ρ)	<i>p</i>-Value
BV/TV (%)	0,60	0,069
Tb.Th(mm)	-0,08	0,819
Tb.N(1/mm)	0,72	0,020
Tb.Sp(mm)	-0,51	0,136
Conn	0,69	0,026
Conn. D	0,64	0,044

6.4 IMAGEM DE TECIDO ÓSSEO *IN-VITRO*

6.4.1 Materiais e métodos

Para demonstrar a aplicação da APE na geração de imagens no tecido ósseo, foi feita uma imagem em um dos fêmures utilizados no experimento anterior. A imagem foi gerada seguindo os procedimentos descritos no capítulo 3 em uma região de interesse de 20x25 mm com passos de 0,25 μ m e foi utilizado um pulso de excitação de 15 μ s. A imagem foi gerada a partir da amplitude do pico espectral centrado em 52 kHz.

6.4.2 Resultados referentes à imagem de tecido ósseo através da APE.

A figura 6-4(a) mostra a imagem feita através da técnica APE do fêmur de Rato e a figura 6-4(b) é uma fotografia tirada aproximadamente no mesmo ângulo e área da imagem de APE para comparação.

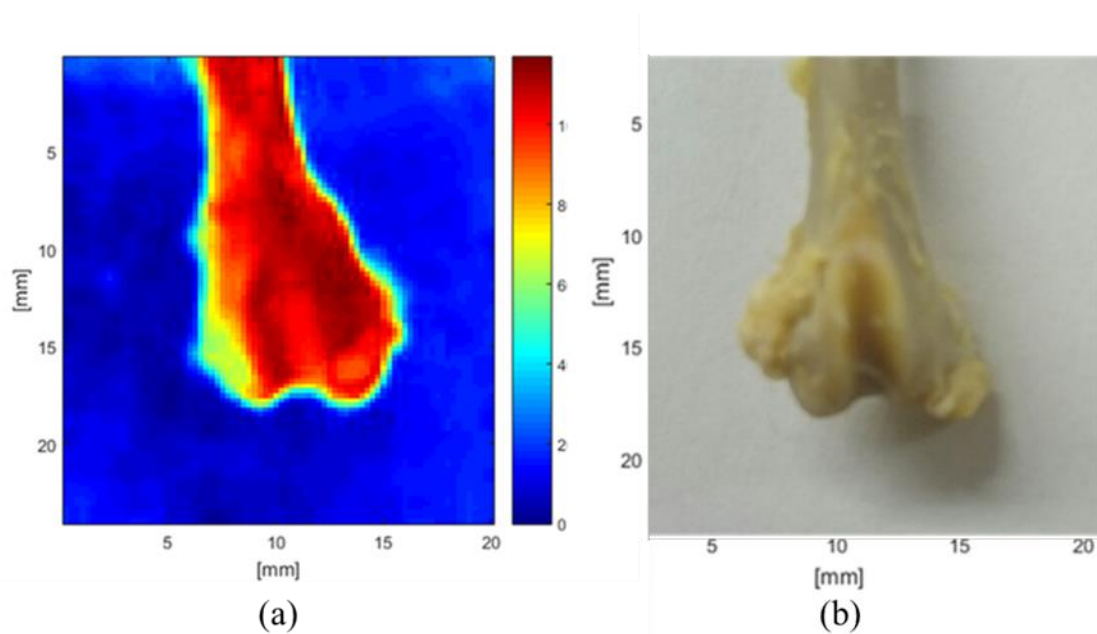


Figura 6-3: Imagem do Fêmur de Rato obtida através da técnica APE; (b) Fotografia do mesmo fêmur de rato tirada aproximadamente no mesmo ângulo e área.

Nota-se na figura 6-4(a) que a imagem produzida é livre de *speckles*, com contornos bem definidos oferecendo um contraste na região da cabeça do fêmur onde nota-se uma reentrância no osso. Esta estrutura dificilmente seria observada em uma ultrassonografia convencional (modo-B) devido aos artefatos de reverberação e a alta diretividade das ondas ultrassônicas de alta frequência. A imagem de APE é formada com frequências muito menores e de modo que o sinal adquirido possua baixa

direcionabilidade, permitindo assim, um maior detalhamento da imagem para casos deste tipo.

7. DISCUSSÃO GERAL

Neste trabalho foi proposta uma nova técnica, que utiliza a radiação acústica focalizada para a caracterização de tecidos, como por exemplo, amostras ósseas (para o diagnóstico de Osteoporose) e também *phantoms* simuladores de tecido biológico.

O desenvolvimento matemático realizado levando-se em conta o espalhamento não-linear estimou que a resposta acústica de baixa frequência teria uma banda entre 30 kHz e 110 kHz como pode ser observado na figura 2-4. Os experimentos realizados para a verificação da existência de contraste na APE mostraram que tal estimativa está coerente com o observado, pois verificou-se sinal com um bom contraste dentro deste range de frequências como pode ser observado na figura 4-10. Acreditamos que, ao passar pelo alvo, o envelope do sinal de excitação é distorcido causando uma mudança tanto da frequência de ressonância quanto da amplitude do sinal, dando origem ao contraste da técnica. Estudos mais aprofundados para desenvolver uma teoria mais detalhada englobando todos os processos de interação da onda de excitação com o meio se fazem necessários para uma melhor descrição dos fenômenos físicos envolvidos. É importante notar que a banda de aquisição do hidrofone de detecção utilizado vai apenas até 80 kHz enquanto o previsto pela teoria é uma banda de resposta que chega a 110 kHz, isto mostra que estudos utilizando um hidrofone capaz de detectar sinais maiores, com frequências entre 80 kHz e 110 kHz devem ser realizados com o intuito de verificar o comportamento

do sinal de resposta em tais frequências e também para se obter uma melhor confirmação experimental da modelagem matemática realizada.

Em casos onde a ecogenicidade dos tecidos se mantem a mesma, porém com diferente rigidez (causadas por alguma doença), técnicas como o ultrassom modo-B não podem ser utilizadas pois o mesmo não seria capaz de detectar tais diferenças. Entretanto, voltando ao desenvolvimento matemático feito para descrever os efeitos não lineares, a constante C da equação 2.10 leva em consideração parâmetros do meio na qual a onda se propaga, tais como, densidade, velocidade e coeficiente não linear. Isto mostra que, o sinal gerado através do espalhamento não linear não depende da ecogenicidade e sim de parâmetros mecânicos, mostrando o motivo da técnica ser capaz de detectar mudanças de rigidez nesta situação. Na figura 5-3 observa-se um *phantom* de parafina gel contendo inclusões com diferentes rigidezes porém mesma ecogenicidade que foi submetido a uma imagem de ultrassom modo-B e uma imagem de APE. A imagem de APE foi capaz de detectar as inclusões e as diferenças de rigidez entre elas. Enquanto as mesmas não foram detectadas na imagem de modo-B. Ensaios mecânicos foram realizados nas inclusões e comparados com o contraste obtido pela técnica APE para cada inclusão. Os valores obtidos de contraste foram proporcionais aos valores de módulo de Young obtidos no ensaio mecânico. Um teste de correlação entre os valores obtidos pela APE e o módulo de Young obtidos pelo teste de compressão obteve o valor de $R = 0,94$, demonstrando uma forte correlação entre os sinais. Embora esta análise tenha sido feita em apenas três amostras este resultado demonstra a capacidade da técnica de fornecer imagens ponderadas não apenas nas características morfológicas do tecido, mas também nas propriedades mecânicas do mesmo.

Utilizou-se a APE para caracterizar-se tecido ósseo, com o intuito de auxiliar no diagnóstico da osteoporose, os resultados mostrados na figura 6-1, juntamente com o resultado do teste ANOVA aplicado nos dados, mostram que a técnica é capaz de diferenciar ossos osteoporóticos de ossos saudáveis. A tabela 6-3 mostra os valores obtidos no teste de correlação de Spearman entre as variáveis. Os resultados obtidos no teste mostram uma forte correlação entre os sinais de APE com o número trabecular (trabecular number: Tb.N) e uma correlação moderada entre os sinais de APE e os parâmetros Espaço entre trabéculas (trabecular spacing:Tb.Sp) e densidade de conectividade (connectivity density: Conn.D). Tais resultados mostram para quais parâmetros mecânicos dos tecidos ósseos a APE pode ser sensível, em especial pode-se notar que a técnica foi sensível para o espaço entre as trabéculas e para o número trabecular que possuem relação direta com a porosidade dos ossos. Além disso uma imagem de um fêmur extraído de um rato foi gerada (figura 6-4(a)). Levando-se em consideração que se utiliza o DXA para este tipo de caracterização e diagnóstico, o avanço desta técnica seria muito benéfica para pacientes que possuem algum tipo de restrição ao uso de radiações ionizantes, como é o caso de crianças. A imagem produzida é livre de *speckles*, com contornos bem definidos oferecendo um contraste na região da cabeça do fêmur onde nota-se uma reentrância no osso. Esta estrutura dificilmente seria observada em uma ultrassonografia convencional (modo-B) devido aos artefatos de reverberação e a alta diretividade das ondas ultrassônicas de alta frequência. A imagem de APE é formada com frequências muito menores e de modo que o sinal adquirido possua baixa direcionabilidade, permitindo assim, um maior detalhamento da imagem para casos deste tipo. A baixa diretividade do sinal acústico de resposta ajuda na formação de imagens de objetos, que como os ossos, possuem superfícies

irregulares. Além disso, com apenas uma aquisição, é possível fazer uma análise multifrequencial diferentemente de outras técnicas como a Vibro-acustografia.

A análise multifrequencial destaca-se como uma das principais vantagens da APE frente a outras técnicas presentes na literatura (como a Vibro-acustografia), ou seja, podendo gerar um espectro com apenas uma aquisição. Possibilitando assim, que diferentes características de determinada amostra sejam estudadas sem a necessidade de múltiplas aquisições. Além disso, não existe aqui a necessidade de se descobrir previamente a frequência de ressonância do sistema, conforme é feito pela técnica de Vibro-acustografia.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

8.1 CONCLUSÕES

Neste trabalho, uma nova técnica chamada APE, capaz de detectar mudanças nos parâmetros mecânicos de tecidos foi apresentada. Baseando-se nos efeitos não lineares associados à propagação acústica, demonstrou-se que a técnica é capaz de produzir sinais acústicos de baixa frequência (kHz) utilizando um sinal de excitação de alta frequência (MHz). Experimentos realizados com uma esfera de metal demonstrou que o sinal acústico de resposta gerado através deste experimento está de acordo com o

previsto teoricamente. Foi demonstrada a existência de contraste com a técnica e caracterizou-se os instrumentos utilizados e experimentos com o intuito de otimizar os parâmetros de excitação e aquisição foram realizados. Demonstrou-se a aplicabilidade da APE na caracterização de tecidos moles. Ao fazer a imagem de um phantom com inclusões com diferentes módulos de Young, a APE foi capaz de detectar estruturas que o ultrassom modo-B não pôde detectar. Uma análise quantitativa foi realizada, comparando-se os valores de contraste obtidos pela técnica APE, com os valores de módulo de Young das inclusões obtidos por um ensaio mecânico e uma alta correlação entre as grandezas foi observada mostrando que a APE é sensível a mudanças de rigidez dos tecidos. Foi realizada a aplicação da APE na caracterização de tecidos ósseos. A técnica foi capaz de diferenciar os ossos provenientes de um grupo osteoporótico e um grupo sadio com grande significância estatística ($p < 0,01$). Ao comparar-se o sinal obtido com parâmetros obtidos por micro-CT observou-se uma forte correlação com parâmetros que estão intimamente relacionados à qualidade óssea, especificamente relacionados à porosidade. A APE foi capaz de produzir imagens de alta qualidade de um fêmur de rato, sendo capaz de detectar concavidades e estruturas que não seriam capazes de se observar utilizando o ultrassom modo-B.

8.2 PERSPECTIVAS

Uma das principais formas de se melhorar a técnica a partir deste trabalho se apresenta ao estudar-se a influência da modificação das funções envelopes utilizados no pulso de excitação. Tais mudanças podem otimizar a geração de ondas de baixa frequência e alterar o contraste da técnica.

Substituir o transdutor focalizado utilizado por um transdutor matricial de modo a não ser mais necessária a realização do escaneamento do plano de imagem otimizará muito o tempo de aquisição dos dados.

A aplicação desta mesma técnica na caracterização de outros materiais que não sejam tecidos biológicos também se apresenta como uma excelente oportunidade. A APE se mostra sensível a parâmetros como rigidez e porosidade e diversos setores da indústria estão interessados em métodos não destrutivos de caracterização de tais parâmetros sem a necessidade de contato. Medidas de porosidade utilizando a APE e a Vibro-acustografia par a caracterização da porosidade de rochas e cerâmicas estão sendo realizadas bem como a detecção de falhas em soldas, detecção rachaduras em tubos metálicos, entre outras aplicações de grande interesse industrial. Por tanto, se faz necessário um estudo mais profundo de modo a otimizar o sistema para cada uma das possíveis aplicações.

9. REFERÊNCIAS

- [1] N. Özkaya, D. Leger, D. Goldsheyder, e M. Nordin, *Fundamentals of Biomechanics: Equilibrium, Motion, and Deformation*. Springer, 2016.
- [2] N. Özkaya, D. Leger, D. Goldsheyder, e M. Nordin, “Mechanical Properties of Biological Tissues”, in *Fundamentals of Biomechanics: Equilibrium, Motion, and Deformation*, N. Özkaya, D. Leger, D. Goldsheyder, e M. Nordin, Orgs. Cham: Springer International Publishing, 2017, p. 361–387.
- [3] K. Lewit e C. Liebenson, “Palpation--problems and implications”, *J Manipulative Physiol Ther*, vol. 16, n° 9, p. 586–590, dez. 1993.
- [4] J. Ophir, I. Céspedes, H. Ponnekanti, Y. Yazdi, e X. Li, “Elastography: a quantitative method for imaging the elasticity of biological tissues”, *Ultrason Imaging*, vol. 13, n° 2, p. 111–134, abr. 1991, doi: 10.1177/016173469101300201.
- [5] M. M. Doyley e K. J. Parker, “Elastography: general principles and clinical applications”, *Ultrasound Clin*, vol. 9, n° 1, p. 1–11, jan. 2014, doi: 10.1016/j.cult.2013.09.006.

- [6] J.-L. Gennisson, T. Deffieux, M. Fink, e M. Tanter, "Ultrasound elastography: Principles and techniques", *Diagnostic and Interventional Imaging*, vol. 94, n° 5, p. 487–495, maio 2013, doi: 10.1016/j.diii.2013.01.022.
- [7] A. Nowicki e K. Dobruch-Sobczak, "Introduction to ultrasound elastography", *J Ultrason*, vol. 16, n° 65, p. 113–124, jun. 2016, doi: 10.15557/JoU.2016.0013.
- [8] "MAGNETIC RESONANCE ELASTOGRAPHY: A REVIEW". <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3066083/> (acessado abr. 26, 2019).
- [9] A. Sarvazyan, T. J. Hall, M. W. Urban, M. Fatemi, S. R. Aglyamov, e B. S. Garra, "AN OVERVIEW OF ELASTOGRAPHY – AN EMERGING BRANCH OF MEDICAL IMAGING", *Curr Med Imaging Rev*, vol. 7, n° 4, p. 255–282, nov. 2011.
- [10] K. R. Nightingale, M. L. Palmeri, R. W. Nightingale, e G. E. Trahey, "On the feasibility of remote palpation using acoustic radiation force", *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 110, n° 1, p. 625–634, jul. 2001, doi: 10.1121/1.1378344.
- [11] P. Dutta, M. W. Urban, O. P. Le Maître, J. F. Greenleaf, e W. Aquino, "Simultaneous identification of elastic properties, thickness, and diameter of arteries excited with ultrasound radiation force", *Physics in Medicine and Biology*, vol. 60, n° 13, p. 5279–5296, jul. 2015, doi: 10.1088/0031-9155/60/13/5279.
- [12] K. Nightingale, "Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI) Imaging: a Review", *Curr Med Imaging Rev*, vol. 7, n° 4, p. 328–339, nov. 2011, doi: 10.2174/157340511798038657.
- [13] S. Aristizabal, C. Amador, Bo Qiang, I. Z. Nenadic, J. F. Greenleaf, e M. W. Urban, "Viscoelastic characterization of transverse isotropic tissue mimicking phantoms and muscle", set. 2014, p. 228–231, doi: 10.1109/ULTSYM.2014.0058.
- [14] M. Fatemi, "Ultrasound-Stimulated Vibro-Acoustic Spectrography", *Science*, vol. 280, n° 5360, p. 82–85, abr. 1998, doi: 10.1126/science.280.5360.82.
- [15] M. W. Urban, A. Alizad, W. Aquino, J. F. Greenleaf, e M. Fatemi, "A Review of Vibro-acoustography and its Applications in Medicine", *Curr Med Imaging Rev*, vol. 7, n° 4, p. 350–359, nov. 2011.
- [16] M. A. Aguilo, W. Aquino, J. C. Brigham, e M. Fatemi, "An Inverse Problem Approach for Elasticity Imaging through Vibroacoustics", *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. 29, n° 4, p. 1012–1021, abr. 2010, doi: 10.1109/TMI.2009.2039225.
- [17] A. Alizad, L. E. Wold, J. F. Greenleaf, e M. Fatemi, "Imaging Mass Lesions by Vibro-Acoustography: Modeling and Experiments", *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. 23, n° 9, p. 1087–1093, set. 2004, doi: 10.1109/TMI.2004.828674.
- [18] G. T. Silva e A. Bandeira, "Difference-frequency generation in nonlinear scattering of acoustic waves by a rigid sphere", *Ultrasonics*, vol. 53, n° 2, p. 470–478, fev. 2013, doi: 10.1016/j.ultras.2012.08.015.
- [19] G. T. Silva, M. W. Urban, e M. Fatemi, "Multifrequency radiation force of acoustic waves in fluids", *Physica D: Nonlinear Phenomena*, vol. 232, n° 1, p. 48–53, ago. 2007, doi: 10.1016/j.physd.2007.05.004.
- [20] E. E. Drakonaki, G. M. Allen, e D. J. Wilson, "Ultrasound elastography for musculoskeletal applications", *Br J Radiol*, vol. 85, n° 1019, p. 1435–1445, nov. 2012, doi: 10.1259/bjr/93042867.

- [21] F. Porta, N. Damjanov, F. Galluccio, A. Iagnocco, e M. Matucci Cerinic, “Ultrasound elastography is a reproducible and feasible tool for the evaluation of the patellar tendon in healthy subjects”, vol. 17, n° 7, p. 760–764, 2014, doi: 10.1111/1756-185X.12241.
- [22] M. Muller, J.-L. Gennisson, T. Deffieux, M. Tanter, e M. Fink, “Quantitative Viscoelasticity Mapping of Human Liver Using Supersonic Shear Imaging: Preliminary In Vivo Feasibility Study”, *Ultrasound in Medicine & Biology*, vol. 35, n° 2, p. 219–229, fev. 2009, doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2008.08.018.
- [23] L. Sandrin, S. Catheline, M. Tanter, X. Hennequin, e M. Fink, “Time-resolved pulsed elastography with ultrafast ultrasonic imaging”, *Ultrason Imaging*, vol. 21, n° 4, p. 259–272, out. 1999, doi: 10.1177/016173469902100402.
- [24] J. Bercoff, M. Tanter, e M. Fink, “Supersonic Shear Imaging: a new technique for soft tissue elasticity mapping”, *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control*, vol. 51, p. 396–409, maio 2004, doi: 10.1109/TUFFC.2004.1295425.
- [25] P. J. Westervelt, “Parametric End-Fire Array”, *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 32, n° 7, p. 934–935, jul. 1960, doi: 10.1121/1.1936546.
- [26] M. A. Averkiou, Y. Lee, e M. F. Hamilton, “Self-demodulation of amplitude- and frequency-modulated pulses in a thermoviscous fluid”, *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 94, n° 5, p. 2876–2883, nov. 1993, doi: 10.1121/1.407344.
- [27] P. Cervenka e P. Alais, “Fourier formalism for describing nonlinear self-demodulation of a primary narrow ultrasonic beam”, *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 88, n° 1, p. 473–481, jul. 1990, doi: 10.1121/1.399926.
- [28] R. P. Barnes e R. T. Beyer, “Ultrasonic Absorption in Water at Finite Amplitudes”, *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 36, n° 7, p. 1371–1377, jul. 1964, doi: 10.1121/1.1919210.
- [29] P. J. Westervelt, “Scattering of Sound by Sound”, *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 29, n° 2, p. 199–203, fev. 1957, doi: 10.1121/1.1908830.
- [30] H. O. Berktag, “Possible exploitation of non-linear acoustics in underwater transmitting applications”, *Journal of Sound and Vibration*, vol. 2, n° 4, p. 435–461, out. 1965, doi: 10.1016/0022-460X(65)90122-7.
- [31] L. Meirovitch, *Analytical methods in vibrations*. Macmillan, 1967.
- [32] X. Zhang, M. Fatemi, R. R. Kinnick, e J. F. Greenleaf, “Modal analysis of a mechanical heart valve by vibro-acoustography”, in *IEEE Symposium on Ultrasonics, 2003*, out. 2003, vol. 2, p. 1392-1395 Vol.2, doi: 10.1109/ULTSYM.2003.1293163.
- [33] *Theoretical Acoustics*. 1987.
- [34] X. CHEN, K. Schwarz, e K. J. Parker, “Radiation pattern of a focused transducer: A numerically convergent solution”, *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 94, p. 2979–91, dez. 1993, doi: 10.1121/1.407329.
- [35] A. L. Baggio, “Imagens acústicas geradas pela interação da radiação ultrassônica com o meio material”, text, Universidade de São Paulo, 2011.
- [36] Lord Rayleigh, “XXXIV. On the pressure of vibrations”, *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science*, vol. 3, n° 15, p. 338–346, mar. 1902, doi: 10.1080/14786440209462769.
- [37] G. R. Torr, “The acoustic radiation force”, *American Journal of Physics*, vol. 52, n° 5, p. 402–408, maio 1984, doi: 10.1119/1.13625.

- [38] R. T. Beyer, "Radiation pressure—the history of a mislabeled tensor", *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 63, n° 4, p. 1025–1030, abr. 1978, doi: 10.1121/1.381833.
- [39] O. V. Rudenko, A. P. Sarvazyan, e S. Y. Emelianov, "Acoustic radiation force and streaming induced by focused nonlinear ultrasound in a dissipative medium", *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 99, n° 5, p. 2791–2798, maio 1996, doi: 10.1121/1.414805.
- [40] A. V. Oppenheim, R. W. Schaffer, e J. R. Buck, *Discrete-time signal processing*, 2nd ed. Upper Saddle River, N.J: Prentice Hall, 1999.
- [41] M. Hodnett e B. Zeqiri, "A strategy for the development and standardisation of measurement methods for high power/cavitating ultrasonic fields: review of high power field measurement techniques", *Ultrasonics Sonochemistry*, vol. 4, n° 4, p. 273–288, out. 1997, doi: 10.1016/S1350-4177(97)00042-4.
- [42] K. Beissner, "IEC measurement standards for ultrasonic hydrophones and radiation force balances", *Journal of The Acoustical Society of America - J ACOUST SOC AMER*, vol. 112, p. 2342–2342, nov. 2002, doi: 10.1121/1.4779466.
- [43] H. A. S. Kamimura *et al.*, "Pressure transducer for measuring acoustic radiation force based on a magnetic sensor", *Measurement Science and Technology*, vol. 22, n° 1, p. 015101, jan. 2011, doi: 10.1088/0957-0233/22/1/015101.
- [44] L. Han, J. A. Noble, e M. Burcher, "A novel ultrasound indentation system for measuring biomechanical properties of in vivo soft tissue", *Ultrasound in Medicine and Biology*, vol. 29, n° 6, p. 813–823, jun. 2003, doi: 10.1016/S0301-5629(02)00776-7.
- [45] V. Egorov, S. Tsyuryupa, S. Kanilo, M. Kogit, e A. Sarvazyan, "Soft tissue elastometer", *Med Eng Phys*, vol. 30, n° 2, p. 206–212, mar. 2008, doi: 10.1016/j.medengphy.2007.02.007.
- [46] T. A. Krouskop, T. M. Wheeler, F. Kallel, B. S. Garra, e T. Hall, "Elastic Moduli of Breast and Prostate Tissues under Compression", *Ultrason Imaging*, vol. 20, n° 4, p. 260–274, out. 1998, doi: 10.1177/016173469802000403.
- [47] A. Samani, J. Bishop, C. Luginbuhl, e D. B. Plewes, "Measuring the elastic modulus of ex vivo small tissue samples", *Phys. Med. Biol.*, vol. 48, n° 14, p. 2183–2198, jul. 2003, doi: 10.1088/0031-9155/48/14/310.
- [48] M. Z. Kiss *et al.*, "Frequency-dependent complex modulus of the uterus: preliminary results", *Phys Med Biol*, vol. 51, n° 15, p. 3683–3695, ago. 2006, doi: 10.1088/0031-9155/51/15/006.
- [49] S. Y. Emelianov *et al.*, "Reconstructive ultrasound elasticity imaging for renal pathology detection", in *1997 IEEE Ultrasonics Symposium Proceedings. An International Symposium (Cat. No.97CH36118)*, out. 1997, vol. 2, p. 1123–1126 vol.2, doi: 10.1109/ULTSYM.1997.661776.
- [50] M. Sanada *et al.*, "Clinical evaluation of sonoelasticity measurement in liver using ultrasonic imaging of internal forced low-frequency vibration", *Ultrasound Med Biol*, vol. 26, n° 9, p. 1455–1460, nov. 2000.
- [51] E. Samur, M. Sedef, C. Basdogan, L. Avtan, e O. Duzgun, "A robotic indenter for minimally invasive measurement and characterization of soft tissue response", *Medical Image Analysis*, vol. 11, n° 4, p. 361–373, ago. 2007, doi: 10.1016/j.media.2007.04.001.

- [52] K. J. Parker, S. R. Huang, R. A. Musulin, e R. M. Lerner, "Tissue response to mechanical vibrations for 'sonoelasticity imaging'", *Ultrasound in Medicine & Biology*, vol. 16, n° 3, p. 241–246, jan. 1990, doi: 10.1016/0301-5629(90)90003-U.
- [53] E. J. Chen, J. Novakofski, W. K. Jenkins, e W. D. O'Brien, "Young's modulus measurements of soft tissues with application to elasticity imaging", *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, vol. 43, n° 1, p. 191–194, jan. 1996, doi: 10.1109/58.484478.
- [54] W.-C. Yeh *et al.*, "Elastic modulus measurements of human liver and correlation with pathology", *Ultrasound in Medicine and Biology*, vol. 28, n° 4, p. 467–474, abr. 2002, doi: 10.1016/S0301-5629(02)00489-1.
- [55] S. F. Levinson, M. Shinagawa, e T. Sato, "Sonoelastic determination of human skeletal muscle elasticity", *Journal of Biomechanics*, vol. 28, n° 10, p. 1145–1154, out. 1995, doi: 10.1016/0021-9290(94)00173-2.
- [56] M. Couade *et al.*, "Quantitative imaging of myocardium elasticity using supersonic shear imaging", in *2009 IEEE International Ultrasonics Symposium*, set. 2009, p. 151–154, doi: 10.1109/ULTSYM.2009.5441647.
- [57] M. W. Urban e J. F. Greenleaf, "A Kramers–Kronig-based quality factor for shear wave propagation in soft tissue", *Phys. Med. Biol.*, vol. 54, n° 19, p. 5919–5933, set. 2009, doi: 10.1088/0031-9155/54/19/017.
- [58] B.-M. Ahn, J. Kim, L. Ian, K.-H. Rha, e H.-J. Kim, "Mechanical Property Characterization of Prostate Cancer Using a Minimally Motorized Indenter in an Ex Vivo Indentation Experiment", *Urology*, vol. 76, n° 4, p. 1007–1011, out. 2010, doi: 10.1016/j.urology.2010.02.025.
- [59] H. Xie *et al.*, "Correspondence of ultrasound elasticity imaging to direct mechanical measurement in aging DVT in rats", *Ultrasound in Medicine and Biology*, vol. 31, n° 10, p. 1351–1359, out. 2005, doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2005.06.005.
- [60] P. N. T. Wells e H.-D. Liang, "Medical ultrasound: imaging of soft tissue strain and elasticity", *J R Soc Interface*, vol. 8, n° 64, p. 1521–1549, nov. 2011, doi: 10.1098/rsif.2011.0054.
- [61] A. L. Golob e M. B. Laya, "Osteoporosis: Screening, Prevention, and Management", *Medical Clinics*, vol. 99, n° 3, p. 587–606, maio 2015, doi: 10.1016/j.mcna.2015.01.010.
- [62] J. Compston *et al.*, "UK clinical guideline for the prevention and treatment of osteoporosis", *Arch Osteoporos*, vol. 12, n° 1, 2017, doi: 10.1007/s11657-017-0324-5.
- [63] F. Cosman *et al.*, "Clinician's Guide to Prevention and Treatment of Osteoporosis", *Osteoporos Int*, vol. 25, n° 10, p. 2359–2381, 2014, doi: 10.1007/s00198-014-2794-2.
- [64] U. Tarantino *et al.*, "Clinical guidelines for the prevention and treatment of osteoporosis: summary statements and recommendations from the Italian Society for Orthopaedics and Traumatology", *J Orthop Traumatol*, vol. 18, n° Suppl 1, p. 3–36, nov. 2017, doi: 10.1007/s10195-017-0474-7.
- [65] J. A. Kanis *et al.*, "SCOPE: a scorecard for osteoporosis in Europe", *Arch Osteoporos*, vol. 8, p. 144, 2013, doi: 10.1007/s11657-013-0144-1.
- [66] J. A. Kanis, N. C. Harvey, C. Cooper, H. Johansson, A. Odén, e E. V. McCloskey, "A systematic review of intervention thresholds based on FRAX : A report prepared for the National Osteoporosis Guideline Group and the International Osteoporosis

- Foundation”, *Arch Osteoporos*, vol. 11, n° 1, p. 25, dez. 2016, doi: 10.1007/s11657-016-0278-z.
- [67] S. Nayak, D. L. Edwards, A. A. Saleh, e S. L. Greenspan, “Systematic review and meta-analysis of the performance of clinical risk assessment instruments for screening for osteoporosis or low bone density”, *Osteoporos Int*, vol. 26, n° 5, p. 1543–1554, maio 2015, doi: 10.1007/s00198-015-3025-1.
- [68] S. H. Tella e J. C. Gallagher, “Prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis”, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, vol. 142, p. 155–170, jul. 2014, doi: 10.1016/j.jsbmb.2013.09.008.
- [69] M. L. Bouxsein, S. K. Boyd, B. A. Christiansen, R. E. Guldberg, K. J. Jepsen, e R. Müller, “Guidelines for assessment of bone microstructure in rodents using micro-computed tomography”, *J. Bone Miner. Res.*, vol. 25, n° 7, p. 1468–1486, jul. 2010, doi: 10.1002/jbmr.141.
- [70] D. A. Sonstegard e L. S. Matthews, “Sonic diagnosis of bone fracture healing—A preliminary study”, *Journal of Biomechanics*, vol. 9, n° 11, p. 689–694, jan. 1976, doi: 10.1016/0021-9290(76)90170-6.
- [71] J. M. Jurist, “In vivo determination of the elastic response of bone. II. Ulnar resonant frequency in osteoporotic, diabetic and normal subjects”, *Phys. Med. Biol.*, vol. 15, n° 3, p. 427–434, jul. 1970, doi: 10.1088/0031-9155/15/3/003.
- [72] C. R. Steele, L.-J. Zhou, D. Guido, R. Marcus, W. L. Heinrichs, e C. Cheema, “Noninvasive Determination of Ulnar Stiffness From Mechanical Response—In Vivo Comparison of Stiffness and Bone Mineral Content in Humans”, *J Biomech Eng*, vol. 110, n° 2, p. 87–96, maio 1988, doi: 10.1115/1.3108423.
- [73] G. Van der Perre, R. Van Audekercke, M. Martens, e J. C. Mulier, “Identification of In-Vivo Vibration Modes of Human Tibiae by Modal Analysis”, *J Biomech Eng*, vol. 105, n° 3, p. 244–248, ago. 1983, doi: 10.1115/1.3138412.
- [74] M. H. Nogueira-Barbosa, H. A. S. Kamimura, G. Braz, P. M. Agnollitto, e A. A. O. Carneiro, “Preliminary results of vibro-acoustography evaluation of bone surface and bone fracture”, *Quant Imaging Med Surg*, vol. 7, n° 5, p. 549–554, out. 2017, doi: 10.21037/qims.2017.09.05.
- [75] M. Gerlanc, D. Haddad, G. W. Hyatt, J. T. Langloh, e P. St Hilaire, “Ultrasonic study of normal and fractured bone”, *Clin. Orthop. Relat. Res.*, n° 111, p. 175–180, set. 1975, doi: 10.1097/00003086-197509000-00025.
- [76] I. M. Siegel, G. T. Anast, e T. Fields, “The determination of fracture healing by measurement of sound velocity across the fracture site”, *Surg Gynecol Obstet*, vol. 107, n° 3, p. 327–332, set. 1958.
- [77] E. Bossy, M. Talmant, e P. Laugier, “Three-dimensional simulations of ultrasonic axial transmission velocity measurement on cortical bone models”, *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 115, n° 5, p. 2314–2324, abr. 2004, doi: 10.1121/1.1689960.
- [78] K. I. Lee e S. W. Yoon, “Feasibility of bone assessment with leaky Lamb waves in bone phantoms and a bovine tibia”, *J. Acoust. Soc. Am.*, vol. 115, n° 6, p. 3210–3217, jun. 2004.
- [79] G. Lowet e G. Van der Perre, “Ultrasound velocity measurement in long bones: measurement method and simulation of ultrasound wave propagation”, *J Biomech*, vol. 29, n° 10, p. 1255–1262, out. 1996.

- [80] P. Moilanen, "Ultrasonic guided waves in bone", *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, vol. 55, n° 6, p. 1277–1286, jun. 2008, doi: 10.1109/TUFFC.2008.790.
- [81] P. Moilanen, P. H. F. Nicholson, V. Kilappa, S. Cheng, e J. Timonen, "Measuring guided waves in long bones: Modeling and experiments in free and immersed plates", *Ultrasound in Medicine & Biology*, vol. 32, n° 5, p. 709–719, maio 2006, doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2006.02.1402.
- [82] J. L. Rose, "Ultrasonic Guided Waves in Solid Media by Joseph L. Rose", *Cambridge Core*, jul. 2014. /core/books/ultrasonic-guided-waves-in-solid-media/B03766B7B6057DB8FF0C2A0AA2019BDA (acessado jul. 21, 2019).
- [83] K. Xu, J. Minonzio, D. Ta, B. Hu, W. Wang, e P. Laugier, "Sparse SVD Method for High-Resolution Extraction of the Dispersion Curves of Ultrasonic Guided Waves", *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, vol. 63, n° 10, p. 1514–1524, out. 2016, doi: 10.1109/TUFFC.2016.2592688.
- [84] Q. Vallet, N. Bochud, C. Chappard, P. Laugier, e J. Minonzio, "In Vivo Characterization of Cortical Bone Using Guided Waves Measured by Axial Transmission", *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, vol. 63, n° 9, p. 1361–1371, set. 2016, doi: 10.1109/TUFFC.2016.2587079.
- [85] "The effect of soft tissue on wave-propagation and vibration tests for determining the in vivo properties of bone", *Journal of Biomechanics*, vol. 10, n° 7, p. 393–401, jan. 1977, doi: 10.1016/0021-9290(77)90015-X.
- [86] "Assessment of tibial stiffness by vibration testing in situ—II. Influence of soft tissues, joints and fibula", *Journal of Biomechanics*, vol. 19, n° 7, p. 551–561, jan. 1986, doi: 10.1016/0021-9290(86)90128-4.
- [87] J. Ziegert e J. L. Lewis, "The Effect of Soft Tissue on Measurements of Vibrational Bone Motion by Skin-Mounted Accelerometers", *Journal of Biomechanical Engineering*, vol. 101, p. 218, ago. 1979, doi: 10.1115/1.3426248.
- [88] A. Alizad, M. Walch, J. Greenleaf, e M. Fatemi, "Vibrational Characteristics of Bone Fracture and Fracture Repair: Application to Excised Rat Femur", *Journal of biomechanical engineering*, vol. 128, p. 300–8, jul. 2006, doi: 10.1115/1.2187037.
- [89] "Application of nonlinear phenomena induced by focused ultrasound to bone imaging", *Ultrasound in Medicine & Biology*, vol. 29, n° 3, p. 465–472, mar. 2003, doi: 10.1016/S0301-5629(02)00729-9.
- [90] Spirlandeli, Adriano Levi, "Osteoporose secundária: implicações ósseas e metabólicas na doença hepática crônica". 2014.
- [91] "(17) (PDF) Hepatic Osteodystrophy: The Mechanism of Bone Loss in Hepatocellular Disease and the Effects of Pamidronate Treatment", *ResearchGate*. https://www.researchgate.net/publication/316451046_Hepatic_Osteodystrophy_The_Mechanism_of_Bone_Loss_in_Hepatocellular_Disease_and_the_Effects_of_Pamidronate_Treatment (acessado jul. 28, 2020).