



COPPE/UFRJ

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE SOFTWARE PARA
QUANTIFICAÇÃO DE PARÂMETROS DA ARQUITETURA MUSCULAR EM
IMAGENS DE PHANTOM ULTRASSÔNICO

Daniel de Souza Alves

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

Orientadores: Wagner Coelho de Albuquerque
Pereira
Lilium Fernandes de Oliveira

Rio de Janeiro
Junho de 2010

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE SOFTWARE PARA
QUANTIFICAÇÃO DE PARÂMETROS DA ARQUITETURA MUSCULAR EM
IMAGENS DE PHANTOM ULTRASSÔNICO

Daniel de Souza Alves

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

Examinada por:

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

Prof. Liliam Fernandes de Oliveira., D.Sc.

Prof Marco Antonio von Krüger, Ph.D.

Prof. Rodrigo Pereira Barreto da Costa-Félix, D.Sc.

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL

JUNHO DE 2010

Alves, Daniel de Souza

Desenvolvimento e Validação de Software para
Quantificação de Parâmetros da Arquitetura Muscular em
Imagens de Phantom Ultrassônico / Daniel de Souza
Alves. – Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2010.

VIII, 65 p.: il.; 29,7 cm.

Orientador: Wagner Coelho de Albuquerque Pereira
Liliam Fernandes Oliveira

Dissertação (mestrado) – UFRJ/ COPPE/ Programa de
Engenharia Biomédica, 2010.

Referencias Bibliográficas: p. 57-65.

1. Ultrassom. 2. Arquitetura Muscular. 3. Software
4 Phantom. I. Pereira , Wagner Coelho de Albuquerque *et. al.*. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE,
Programa de Engenharia Biomédica. III. Título.

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

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE SOFTWARE PARA QUANTIFICAÇÃO
DE PARÂMETROS DA ARQUITETURA MUSCULAR EM IMAGENS DE PHANTOM
ULTRASSÔNICO

Daniel de Souza Alves

Junho/2010

Orientadores: Wagner Coelho de Albuquerque Pereira

Liliam Fernandes de Oliveira

Programa: Engenharia Biomédica

Técnicas de imagem são utilizadas na obtenção de informações sobre a mecânica muscular. Na determinação de parâmetros tendíneos ou musculares, a ultrassonografia apresenta vantagens como menor custo e análise da imagem em tempo-real. Embora este tipo de estudo seja amplamente aplicado, há escassez de protocolos de validação das rotinas empregadas na quantificação de tais variáveis, denotando uma aceitação consensual das metodologias e erros inerentes. Este estudo desenvolve uma ferramenta computacional para medição de parâmetros extraídos de imagens ultrassônicas e emprega uma metodologia para sua validação através de *phantom* com propriedades acústicas similares a tecidos moles. Os parâmetros analisados foram: distâncias verticais e horizontais, comprimento e ângulos entre retas e deslocamento de pontos, todos relacionados à arquitetura muscular. Estas medidas foram comparadas com transferidor, paquímetro convencional e eletrônico (do equipamento). Os parâmetros apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre quatro avaliadores e as medidas de referência, porém sem relevância clínica, quando individualmente aplicados em estudos da mecânica muscular. Os resultados demonstram boa acurácia e precisão do software, evidenciando seu potencial de utilização.

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

SOFTWARE DEVELOPMENT AND VALIDATION FOR QUANTIFICATION OF
MUSCULAR ARCHITETURE PARAMETERS IN ULTRASONIC PHANTOM IMAGES

Daniel de Souza Alves

June/2010

Advisors: Wagner Coelho de Albuquerque Pereira

Liliam Fernandes de Oliveira

Department: Biomedical Engineering

Imaging techniques are used to obtain information on muscle mechanics. In determining the tendon or muscle parameters, ultrasound has advantages such as lower cost and real-time image analysis. Although this type of study is widely applied, there is a paucity of validation protocols of the routines used in quantifying these variables, indicating a consensus regarding the methodologies and their inherent errors. This study develops a computational tool for measuring parameters extracted from ultrasonic images and employs a methodology for its validation using phantom with similar soft tissues acoustic properties. The parameters analyzed were horizontal and vertical distances, length, angles and displacements, all related to muscle architecture. These measurements were compared with a protractor, conventional and electronic caliper (from the US equipment). The parameters showed statistically significant differences between four evaluators and the reference measures, but without clinical relevance when individually applied to studies of muscle mechanics. The results showed good accuracy and precision of the software, demonstrating its potential use.

Índice

	Página
Capítulo 1: INTRODUÇÃO	1
1.1 OBJETIVOS	2
1.1.1 Objetivos Gerais	2
1.1.2 Objetivos Específicos	3
Capítulo 2: FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	4
2.1 ULTRASSONOGRRAFIA (MODO-B)	4
2.2 MÚSCULO ESQUELÉTICO	6
2.2.1 Arquitetura Muscular – Parâmetros Medidos	8
2.2.1.1 <i>Ângulo de Penação (AP)</i>	9
2.2.1.2 <i>Comprimento do Fascículo (CF)</i>	11
2.2.1.3 <i>Espessura Muscular (EM)</i>	13
2.2.1.4 <i>Parâmetros do Tendão</i>	15
2.2.2 Arquitetura Muscular – Parâmetros Estimados	16
2.2.2.1 <i>Volume Muscular</i>	16
2.2.2.2 <i>Área de Seção Transversa Anatômica (ASTA) e Área de Seção Transversa Fisiológica (ASTF)</i>	17
2.2.2.3 <i>Braço de Força (BF)</i>	18
Capítulo 3: METODOLOGIA	20
3.1 CONFECÇÃO DO <i>PHANTOM</i>	20
3.2 PARÂMETROS ACÚSTICOS DO <i>PHANTOM</i>	22
3.3 SISTEMA E PROTOCOLO DE AQUISIÇÃO DAS IMAGENS	22
3.4 PROTOCOLO DE QUANTIFICAÇÃO DAS IMAGENS	23
3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	26
Capítulo 4: RESULTADOS	29
4.1 DISTÂNCIAS HORIZONTAIS (DH1, DH2 E DH3)	29

4.2 DISTÂNCIAS VERTICAIS (DV1, DV2, DV3, DV4, DV5 E DV6)	32
4.3 COMPRIMENTOS (CR1 E CR2)	36
4.4 ÂNGULOS (ANG1, ANG2 E ANG3)	39
4.5 DESLOCAMENTOS (DE1, DE2 E DE3)	42
Capítulo 5: DISCUSSÃO	46
5.1 DISTÂNCIAS HORIZONTAIS	46
5.2 DISTÂNCIAS VERTICAIS	47
5.3 COMPRIMENTOS	49
5.4 ÂNGULOS	50
5.5 DESLOCAMENTOS	52
5.6 APLICAÇÃO DOS PARÂMETROS	53
Capítulo 6: CONCLUSÃO	56
Referências Bibliográficas	57

Lista de Símbolos

2P	2 pontos
5P	5 pontos
A	avaliador
ANG	ângulo entre retas
AP	ângulo de penetração
ASTA	área de seção transversa anatômica
ASTF	área de seção transversa fisiológica
BF	braço de força
CF	comprimento do fascículo
CR	comprimento de reta
CV	coeficiente de variação
DH	distância horizontal
DE	deslocamento de ponto
dp	desvio-padrão
DV	distância vertical
EM	espessura muscular
JMT	junção miotendínea
P	paquímetro convencional
RM	ressonância magnética
T	medidas com transferidor
TC	tomografia computadorizada
U	paquímetro eletrônico
US	ultrassonografia modo-B
VM	volume muscular

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

Métodos de avaliação do complexo músculo-esquelético e de suas estruturas internas têm sido utilizadas com o objetivo de prover informações mais precisas para o diagnóstico e tratamento de lesões bem como para o acompanhamento de diferentes tipos de treinamento e efeitos do envelhecimento. Técnicas de imagem, como ressonância magnética (RM) [1], tomografia computadorizada (TC) [2], radiografia e ultrassonografia modo-B (US) [3,4,5], são utilizadas na caracterização e medição de vários parâmetros do tecido muscular esquelético. Essas técnicas de imagem permitem a medição *in vivo* dos parâmetros comumente relatados a partir de pesquisas *in vitro* com peças anatômicas (animais ou humanos) ou *ex vivo*, com fibras isoladas, possibilitando maior fidedignidade no que concerne à mecânica muscular em situações reais [6,7]. Para determinação de parâmetros tendíneos ou musculares, a US apresenta vantagens como menor custo relativo, fácil manuseio e portabilidade, contraste entre os tecidos, boa reprodutibilidade, não exposição do indivíduo à radiação e a possibilidade de análise da imagem em tempo-real [8,9].

A arquitetura muscular, a mecânica dos tendões e a geometria articular estão entre as questões musculares mais estudadas com a US. A partir de medidas como o comprimento do fascículo (CF) [10], o ângulo de penação (AP) [11], a espessura muscular (EM) [12] e a curvatura do fascículo [13] é possível, com a utilização de modelos biomecânicos, estimar a área de seção transversa anatômica (ASTA) e fisiológica (ASTF) e o volume muscular (VM) [14]. Em relação ao tendão, as medidas de deslocamento da junção miotendínea (JMT) permitem análises das propriedades físicas desta estrutura, como a complacência [15], a histerese [16] e a relação tensão-deformação [17]. No que diz respeito à geometria articular, o braço de força (BF) da unidade músculo-tendão é utilizado em modelos que estimam a participação de um determinado músculo ou grupamento muscular na produção do torque articular [14] ou em intervenções cirúrgicas que visam a reconstrução ou transplante de tendões [18].

A maioria dos estudos de arquitetura muscular por imagens ultrassônicas utiliza softwares livres, como o ImageJ (National Institute of Health) [19], que não são

desenvolvidos para este fim, logo com lacunas metodológicas como a conversão pixel-centímetro. Alguns desenvolvem rotinas em Matlab®, por exemplo, para fins específicos, no entanto sem quaisquer informações sobre validação [20], questão abordada em poucos trabalhos [21,22], como o de Lee *et al.* [23], que validou um algoritmo para rastreamento automático da JMT. Outros realizam as medidas com o auxílio de régua e goniômetros no próprio monitor do aparelho de US ou computador [3,4,24,25], o que pode levar a equívocos nas quantificações, já que a imagem pode sofrer alterações em sua escala ou até mesmo apresentar distorções das estruturas investigadas. Algumas das principais limitações nas análises residem na identificação pontual das interfaces teciduais (adiposo-muscular e muscular-ósseo) e na seleção de regiões de interesse (como a JMT), o que pode introduzir um erro significativo intra e inter-avaliadores. A determinação do erro de medida relacionado ao protocolo de análise da imagem é fundamental para avaliação da função muscular, da precisão de modelos matemáticos de estimativa da força e das adaptações do tecido submetido a condições de uso aumentado ou desuso [24,25,26,27,28]. Portanto, este estudo pretende desenvolver uma ferramenta computacional de fácil utilização para medição de parâmetros extraídos de imagens ultrassônicas (distâncias horizontais e verticais, comprimento e ângulo entre retas e deslocamentos de pontos de referência) e emprega uma metodologia para sua validação através de *phantom* com propriedades acústicas similares às do tecido muscular esquelético e medidas conhecidas.

O capítulo 2 apresenta um embasamento teórico e revisão da literatura da técnica de ultrassonografia e da arquitetura do músculo esquelético, atentando para alguns parâmetros musculares que podem ser medidos e estimados com o auxílio do aparelho de US. A metodologia empregada no estudo está descrita no capítulo 3. Os resultados obtidos são apresentados no capítulo 4. Já a discussão destes, baseada em trabalhos encontrados na literatura encontra-se no capítulo 5 e a conclusão do estudo no 6.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivos Gerais

O objetivo deste estudo é desenvolver um software para quantificação de parâmetros do tecido muscular esquelético, obtidos de imagens de ultrassom, e a validação do mesmo através de testes com *phantom*.

Este trabalho pretende contribuir para o estabelecimento de um protocolo de medição com acurácia e precisão conhecidas, e conseqüentemente reprodutibilidade e confiabilidade aceitáveis, possibilitando a utilização de metodologias de quantificação de propriedades biomecânicas mais fidedignas e menos dependentes do avaliador.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Desenvolvimento de um rotina computacional em LabVIEW® para quantificação em imagens ultrassônicas de:
 - distâncias horizontais;
 - distâncias verticais;
 - comprimentos;
 - ângulos;
 - deslocamento de pontos.
- Projetar e construir um *phantom* ultrassônico mimetizador de tecido muscular esquelético específico para as medições pretendidas;
- Análise da confiabilidade e variabilidade das medidas;
- Análise de variabilidade das medidas inter-avaliadores;
- Análise de variabilidade das medidas intra-avaliador;
- Validação da rotina com a utilização do *phantom*;
- Estimativa da importância funcional e aplicada do erro inerente ao método de quantificação.

CAPÍTULO 2

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 ULTRASSONOGRAFIA (MODO-B)

Um dos equipamentos utilizados na avaliação e análise dos mais diversos aspectos biológicos do corpo humano é o ultrassom de imagens, uma vez que se trata de um método não invasivo com grande aplicabilidade em rotina clínica e também em pesquisas científicas em diversas áreas, como é o caso da Biomecânica (especificamente a contração muscular), Medicina Neonatal, Oncologia, Obstetrícia, Medicina Interna, etc.

O aparelho de US funciona no modo pulso-eco, que consiste na emissão de um pulso ultrassônico e recepção dos ecos produzidos pelas reflexões (e espalhamentos) nos meios (Figura 2.1). As ondas ultrassônicas são enviadas e recebidas por transdutores que possuem um elemento piezoelétrico. O efeito piezoelétrico, responsável por esse processo, pode ser classificado como direto ou reverso; é direto se o material se deforma quando uma tensão elétrica é aplicada em sua superfície, ou seja, transforma energia elétrica em mecânica. O efeito reverso acontece quando o material sofre tensões mecânicas e gera um campo elétrico, transformando energia mecânica em elétrica [29,30,31]. A geração de pulsos acontece pelo efeito direto e a recepção pelo reverso.

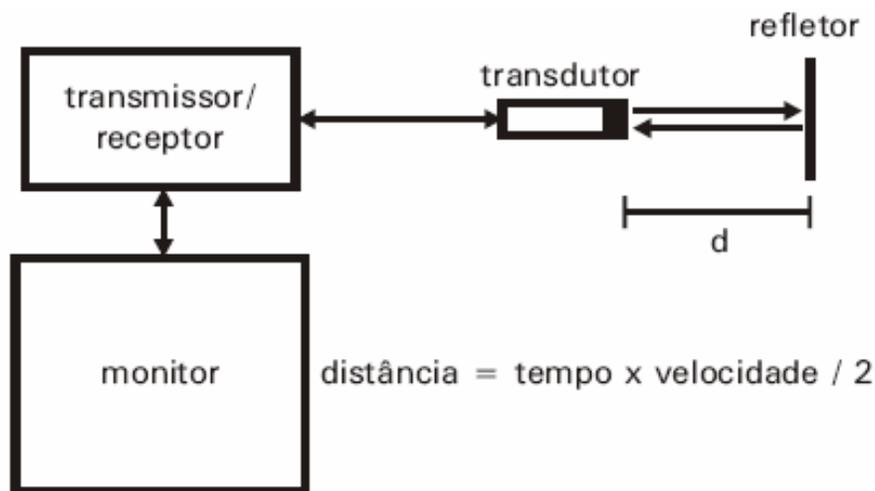


Figura 2.1: Esquema de funcionamento do aparelho de ultrassom modo-B. Transmissão e recepção do pulso ultrassônico para formação de imagem e cálculo da distância do refletor através do tempo e velocidade de propagação (assumida 1540 m/s para tecidos moles).

Os materiais piezoelétricos mais comuns em aparelhos ultrassônicos são cerâmicas de Titanato de Bário ou Titanato Zirconato de Chumbo (PZT). A grande vantagem de se produzir artificialmente estes materiais é o preparo de acordo com a sua utilização, pois podem ser cortados em infinitos tamanhos e formatos, possibilitando a criação de transdutores que vibrem em uma faixa de frequência desejada.

A propagação da onda decorre da vibração conduzida de molécula em molécula, transmitindo a energia sem, contudo, produzir deslocamento resultante, uma vez que as moléculas voltam ao repouso logo após o processo de condução energética. A onda ultrassônica é emitida em frequências que não podem ser percebidas pelo ouvido humano, acima de 20 kHz [29,30]. Os aparelhos de uso clínico funcionam em uma faixa de 1 a 20 MHz.

Outro parâmetro importante é a velocidade de propagação do som no meio, inversamente proporcional à densidade e compressibilidade e diretamente proporcional à força atrativa do meio o qual o pulso atravessa. Uma vez que meios mais rígidos apresentam forças atrativas maiores, a velocidade de propagação das ondas nos mesmos é maior. Por outro lado, meios mais densos reduzem a velocidade de propagação. Os aparelhos de US assumem que o pulso se propaga a uma velocidade média nos tecidos moles (1540 m/s), logo em meios com velocidades muito maiores ou menores, haverá um erro associado à formação da imagem e ao realizar cálculos de distância e espessura, por exemplo. Entretanto, como as distâncias de propagação envolvidas são da ordem de alguns centímetros, estes erros não são significativos. A velocidade de propagação no músculo humano varia entre 1542 e 1626 m/s [30].

O imageamento bidimensional por ultrassom ocorre através do mapeamento espacial das amplitudes dos ecos advindos de tecidos e órgãos, gerando dados qualitativos e quantitativos da anatomia pesquisada. A localização dos pontos na imagem se refere à posição em que os objetos mapeados se encontram em relação ao transdutor, sendo determinada pela orientação do feixe e tempo de chegada dos ecos. Já o brilho (escala de tonalidades de cinza) se refere à amplitude do eco recebido [30]. A imagem é, portanto, feita linha por linha, representando os ecos refletidos nas grandes interfaces (representados por linhas brilhantes) e os espalhados nas partículas de tamanho da ordem de grandeza do comprimento de onda (gerando o aspecto granulado na textura da imagem) (Figura 2.2).

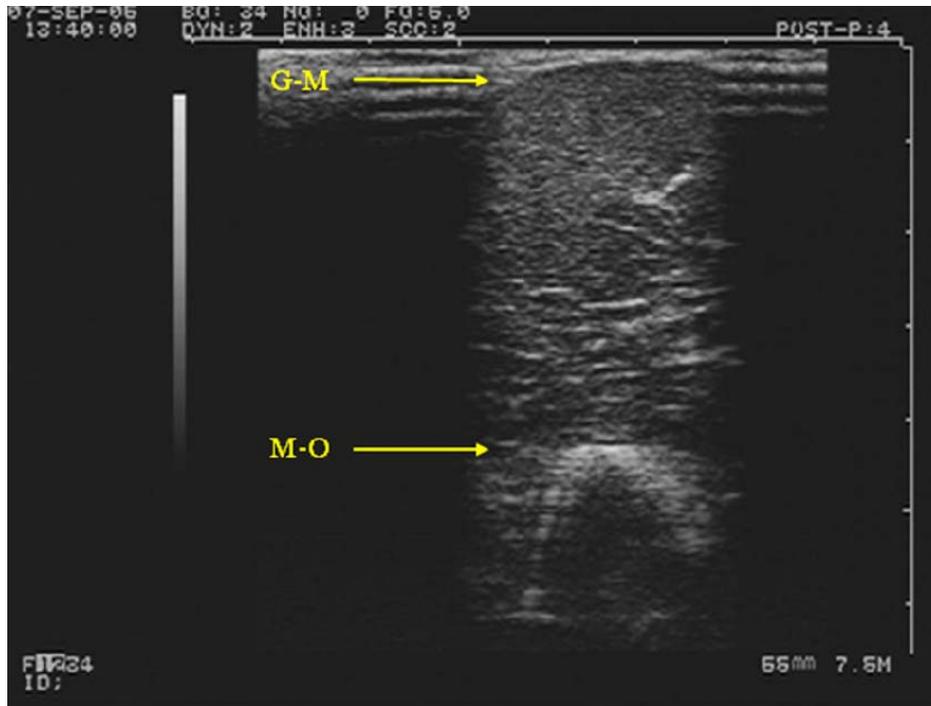


Figura 2.2: Ultrassonografia de músculo esquelético humano. Em destaque as interfaces gordura-músculo (G-M) e músculo-osso (M-O).

2.2 MÚSCULO ESQUELÉTICO

O complexo músculo-tendão pode ser dividido, basicamente, em dois componentes mecânicos: elástico e contrátil. O componente elástico compreende todo o tecido conjuntivo que compõe o complexo (epimísio, perimísio, endomísio, sarcolema e estruturas endosarcoméricas) e o contrátil é composto pelo tecido muscular propriamente dito.

O tecido conjuntivo fibroadiposo que circunda o ventre muscular é denominado perimísio e/ou aponeurose e sua junção nas extremidades musculares forma os tendões, cuja principal função é a transmissão da força muscular para o osso. O agrupamento das fibras musculares em feixes forma os fascículos, também envolvidos pelo perimísio e agrupados de acordo com um arranjo espacial específico denominado arquitetura muscular. As fibras musculares contêm miofibrilas que são formadas pelo sequenciamento de milhares de sarcômeros (unidade funcional do músculo esquelético) e são individualmente circundadas por uma camada de tecido conjuntivo denominado endomísio (Figura 2.3).

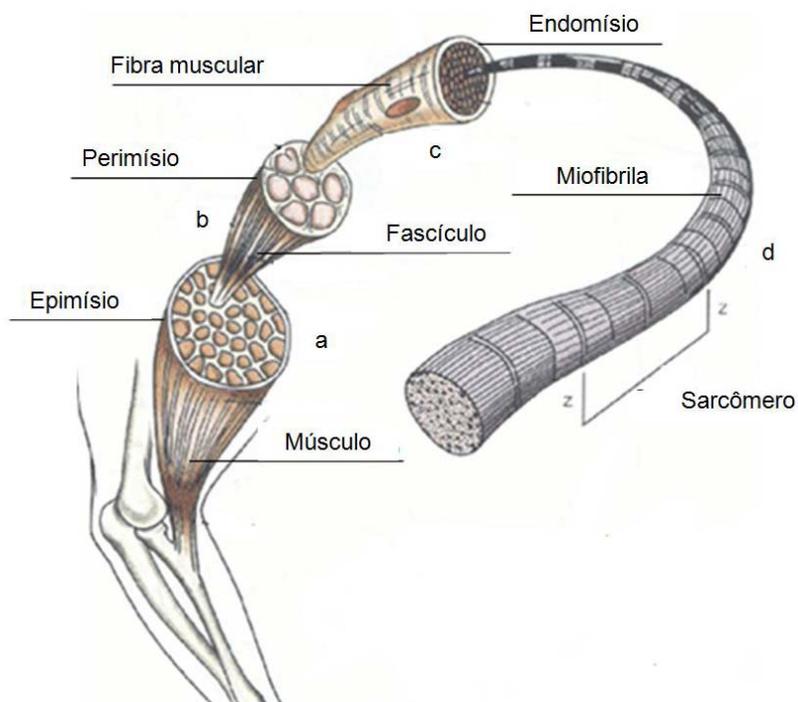


Figura 2.3: Organização estrutural do músculo esquelético (adaptado de Bankoff [32]).

Estas estruturas podem ser bem visualizadas em imagens ultrassônicas (Figura 2.4), nas quais os feixes de fibras são facilmente identificados como zonas hipocóicas e o perimísio (separando os fascículos), epimísio, fâscias, nervos e tendões como linhas hiperecóicas [8,9,33].

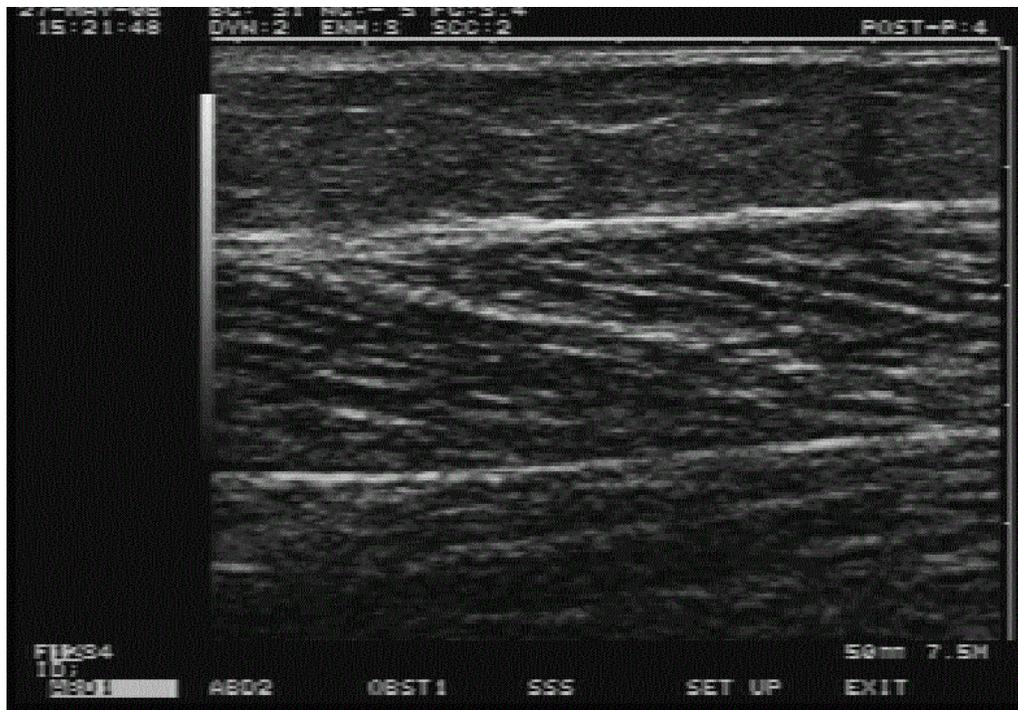


Figura 2.4: Imagem ultrassônica de músculo esquelético. Fascículos visualizados como zonas hipocóicas e tecido conjuntivo como hiperecóicas.

2.2.1 Arquitetura Muscular – Parâmetros Medidos

A produção de força de um músculo depende das propriedades mecânicas de seu componente contrátil (proteínas contráteis: actina, miosina e outras), assim como do arranjo de suas fibras no músculo e propriedades físicas do tendão [18]. Tais características estruturais compõem a arquitetura muscular, que possui um papel primordial na produção de força e na determinação da função muscular.

Diversos estudos relacionados à arquitetura muscular vêm sendo desenvolvidos para avaliar as adaptações do tecido submetido a condições de uso aumentado ou desuso, esclarecendo as mudanças e suas aplicações funcionais que podem determinar diretrizes para programas de treinamento e reabilitação [25,28,34,35,36,37]. Outro campo de pesquisa é na distinção de fenótipos para determinação de características determinantes em atletas de alto rendimento [36,38].

Inicialmente os parâmetros de arquitetura muscular humana eram obtidos de pesquisas *in vitro*, com peças anatômicas. Nestes estudos, devido à técnica de fixação e idade avançada dos indivíduos, as fibras musculares não representavam as condições do músculo no seu contexto fisiológico real *in vivo* [3,39]. Com o desenvolvimento de técnicas de imagem, não-invasivas, tornou-se possível o estudo da arquitetura muscular *in vivo*, durante contrações musculares ou em repouso [7,20,40,41,42,43]. Outras técnicas de imagem, como a ressonância magnética, podem ser utilizadas. No entanto, vantagens como menor custo relativo, fácil manuseio e portabilidade, bom contraste entre os tecidos, boa reprodutibilidade, não exposição do indivíduo à radiação e a possibilidade de análise da imagem em tempo-real, fazem da US a técnica mais utilizada para análise de parâmetros arquitetônicos como os descritos nas próximas seções.

Medidas ultrassônicas da arquitetura muscular foram validadas em populações distintas [44,45], em peças anatômicas [3,39,46] e pela comparação com valores obtidos a partir de imagens de RM que mostraram correlações significativas para os grupamentos musculares estudados [12].

2.2.1.1 Ângulo de Penação (AP)

Existem dois tipos básicos de disposição das fibras musculares, classificados em fusiforme e penado. No primeiro, as fibras correm paralelamente à linha de ação muscular, ligando o tendão proximal ao distal. No segundo, as fibras estão dispostas obliquamente à linha de ação e se inserem na aponeurose interna. O ângulo agudo formado entre as fibras e a aponeurose interna é denominado ângulo de penação [5,18,37,47] (Figura 2.5). Os músculos adutor magno e sartório, com fascículos longos orientados paralelamente à linha de força, são exemplos de músculos fusiformes, enquanto o sóleo e gastrocnêmio, com fascículos menores, são penados.

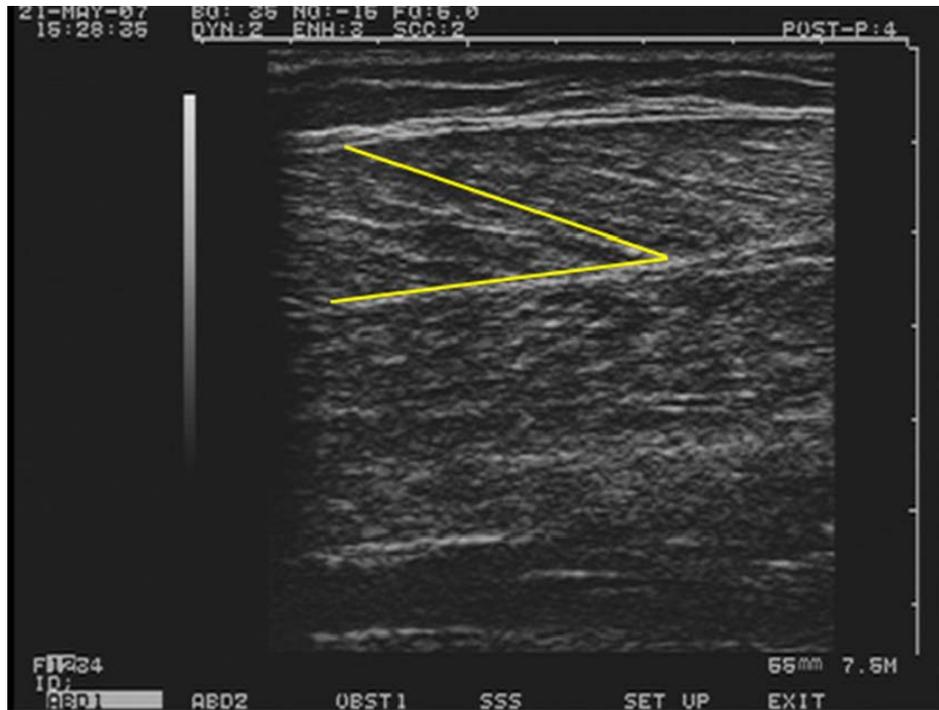


Figura 2.5: Imagem ultrassônica do músculo gastrocnêmio. Ângulo de penação em destaque.

Os valores do AP variam de acordo com o grupamento muscular e população, sendo relatados valores de até 30° , podendo ser maiores dependendo do estado em que a musculatura se encontra (repouso ou contração) [18,24].

O AP está diretamente relacionado com a quantidade de tecido contrátil por unidade de área muscular e, juntamente com o comprimento da fibra, tem influência direta sobre propriedades mecânicas como a capacidade de produção de força e a velocidade de encurtamento do músculo. A perda de eficiência da capacidade de geração de força em músculos penados está associada ao fato de sua linha de ação não corresponder à direção de deslocamento do músculo e portanto ocorre redução da componente efetiva da força (cosseno do AP), o que é compensado pela maior quantidade de material contrátil disposto em paralelo (Figura 2.6).

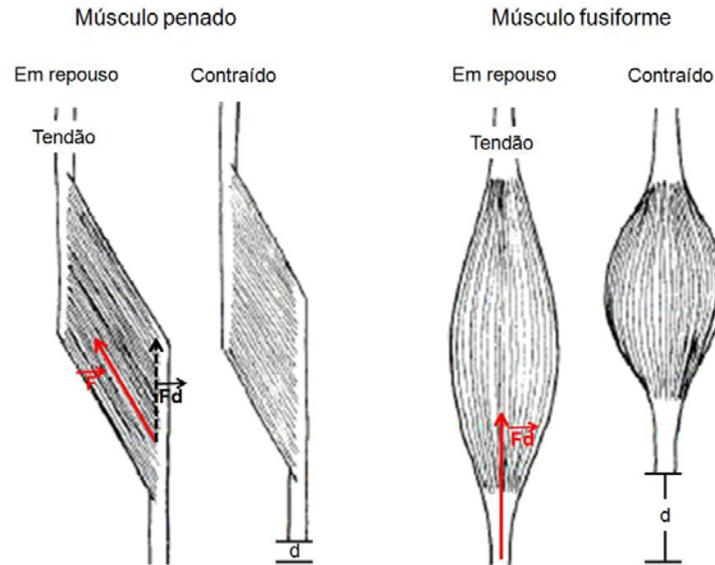


Figura 2.6: Ilustração do músculo penado e fusiforme em repouso e contraído. Destaque para o vetor da força muscular (F) e sua componente para o deslocamento do músculo (Fd).

2.2.1.2 Comprimento do Fascículo (CF)

O comprimento do fascículo, correspondente ao comprimento da fibra, é determinado, nos músculos penados, como a distância entre a aponeurose interna e a externa (epimísio) (Figura 2.7). Nos músculos fusiformes, nos quais a direção dos fascículos é a mesma da linha de ação muscular, este parâmetro é considerado como a distância entre as junções miotendíneas proximal e distal, o que normalmente implica maior capacidade de alongamento e velocidade de contração. Há grande variação do CF entre os dois tipos de músculos, um exemplo comparativo clássico é o tibial posterior, considerado penado, que apresenta comprimento de 3,78 cm, já o sartório, fusiforme, 40,3 cm [48].

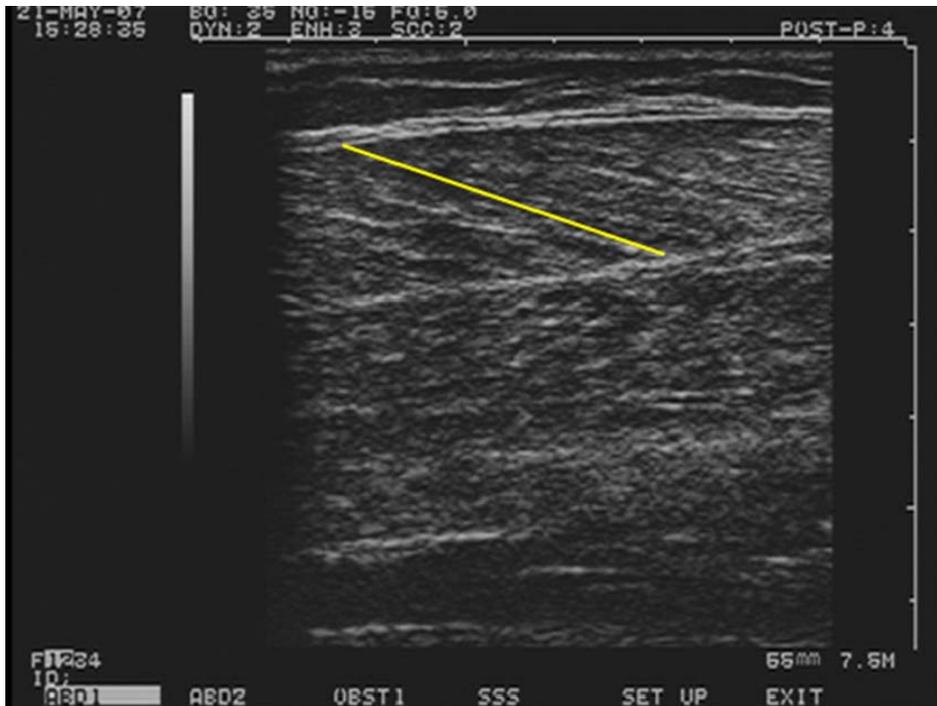


Figura 2.7: Imagem ultrassônica do músculo gastrocnêmio. Comprimento do fascículo em destaque.

Assim como o AP, o CF varia com o estímulo mecânico imposto. A ativação muscular provoca a redução do tamanho das fibras pelo somatório dos encurtamentos das bandas Z dos sarcômeros em série durante processo de acoplamento das proteínas contráteis [18].

O CF, assim como o AP, está diretamente relacionado à capacidade de tensão máxima [49,50] e a relação entre a tensão e o comprimento descrevem a curva comprimento-tensão [50] (Figura 2.9). O comportamento ascendente-descendente desta curva indica a incapacidade da fibra muscular de produzir tensão em seus menores comprimentos. O alongamento gradual das fibras implica aumento do torque até o patamar máximo, que se mantém para um intervalo de comprimento, denominado ótimo. Em comprimentos maiores do que o ótimo, a capacidade de produção de torque tem padrão descendente, atingindo valores mínimos próximo ao limiar de rompimento da fibra.



Figura 2.9: Curva comprimento-tensão de uma fibra isolada (adaptado de Huxley [50]).

Pequenas alterações no comprimento de um músculo penado tem efeitos relativos mais significativos do que em fusiformes, podendo deslocar o músculo para posições desvantajosas para geração de força de acordo com a curva comprimento-tensão. Suas fibras têm comprimentos menores e conseqüentemente, uma menor quantidade de sarcômeros em série se comparada com uma fibra longa de um músculo paralelo ou fusiforme e, portanto, para o mesmo valor absoluto de redução do comprimento da fibra, o encurtamento relativo por sarcômero será maior para uma fibra curta. Músculos penados apresentam como principais características mecânicas uma maior capacidade de produção de força e pouca amplitude de excursão muscular e, portanto, observa-se menor velocidade de contração relativa aos músculos com fibras mais longas [51,52] (Figura 2.6).

Maganaris *et al.* [53] estudaram o padrão da arquitetura muscular do tríceps sural durante contrações isométricas voluntárias máximas e repouso. Nove imagens de US foram realizadas em diferentes locais do ventre muscular. Não houve diferença significativa no CF e AP entre as regiões analisadas, apesar da grande diferença entre o repouso e contração. Chleboun *et al.* [39] compararam medidas diretas de AP e CF do bíceps femoral de cadáveres com obtidas em imagens de US e não encontraram diferenças significativas.

2.2.1.3 Espessura Muscular (EM)

A espessura muscular é a distância perpendicular entre as aponeuroses interna e externa, medida em local de maior diâmetro muscular, descrito na literatura a partir de trabalhos de validação com peças anatômicas ou ressonância magnética. É visualizada em imagens transversais ou longitudinais à linha de ação muscular [1,37] (Figura 2.10).

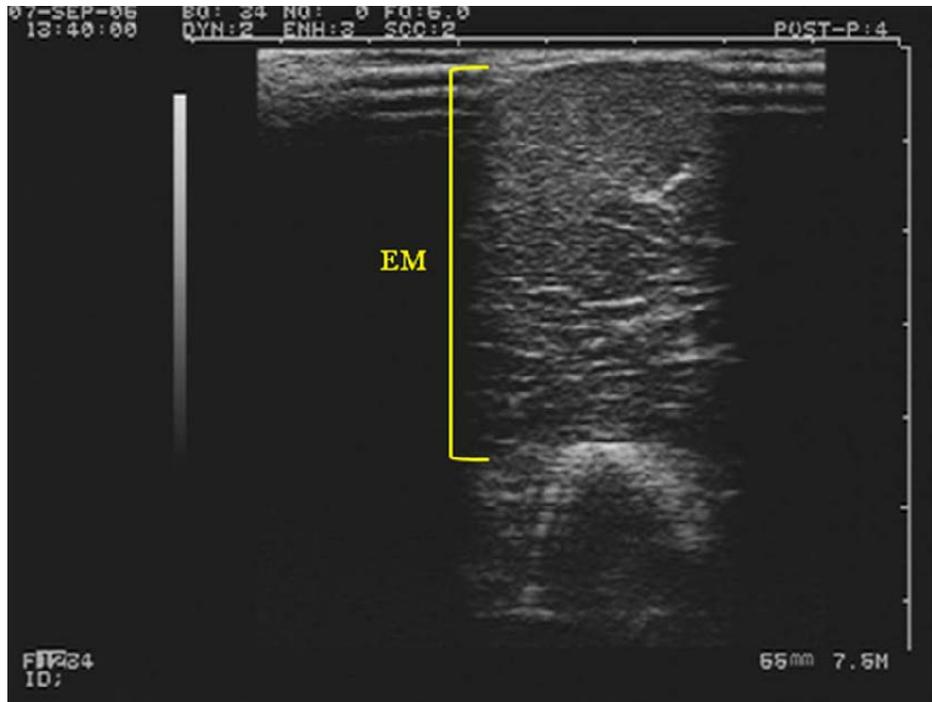


Figura 2.10: Imagem ultrassônica do músculo bíceps braquial. Espessura muscular (EM) em destaque.

É um parâmetro que pode ser quantificado diretamente das imagens de US e é utilizado para estimativas indiretas da área de seção transversa e volume muscular, sendo útil portanto em análises da força e função muscular. Martinson e Stokes [54] demonstraram uma forte correlação entre EM e área de seção transversa anatômica em indivíduos destreinados ($r^2 = 0,81$).

Exemplos de valores médios de EM de membros superiores determinados através de imagens de US são 3,3 e 3,8 cm para os flexores e extensores do cotovelo, respectivamente [55]. Para membros inferiores, são encontrados valores de 2,3 cm para o vasto lateral isoladamente e 5 cm para o grupamento extensor do joelho [19].

Miyatani *et al.* [55] demonstraram a acurácia de medições de espessura muscular utilizando técnicas de ultrassom para aquisição de imagens em um cadáver. A média de EM quantificada nas imagens foi 1,8% menor do que a média dos dados obtidos diretamente, embora sem diferença estatística. A reprodutibilidade das medidas foi avaliada em dois dias separados em teste-piloto com dez indivíduos e foi encontrado coeficiente de repetibilidade de 5,5%. Maganaris *et al.* [53] testaram a reprodutibilidade das medidas de arquitetura

muscular em imagens adquiridas de um mesmo indivíduo, durante dez dias consecutivos. Os autores encontraram valores de coeficiente de variação de 2,9, 4,9 e 4,3% para a EM, AP e CF, respectivamente.

2.2.1.4 Parâmetros do Tendão

A maior parte dos componentes elásticos do complexo músculo-tendão está localizada nos tendões, sujeitos à deformação e frouxidão. As variações de comprimento, constatadas em situações como contrações isométricas voluntárias máximas [56] e mobilizações articulares passivas [57], confere aos tendões grande importância dentro do sistema ósteo-mio-articular, afetando diretamente a mecânica muscular e o potencial de produção de força [57].

Alguns estudos, como o de Cook e McDonagh [58] consideram apenas a porção extra-muscular do tendão, no entanto, já foi demonstrado que a intra-muscular apresenta comportamento próprio durante a contração muscular [59]. Dois grandes benefícios de métodos que utilizam a US são as análises nas duas porções e *in vivo*, já que os tendões sofrem alterações quando não estão nesta condição [60].

Muitos estudos têm observado alterações nas propriedades mecânicas da unidade músculo-tendão decorrentes de programas de treinamento de força, resistência, flexibilidade e reabilitação [16,27,28,61]. As propriedades normalmente avaliadas através da US são a deformação relativa e a tensão. A deformação relativa do tendão é estimada através da quantificação do deslocamento da junção miotendínea durante o movimento articular. É calculada pela razão entre a variação de comprimento e o comprimento original da estrutura deformada, sendo uma grandeza adimensional normalmente expressa em termos percentuais [17]. A tensão é indicada pela razão entre a força aplicada e a deformação relativa, e pode ser representada pela inclinação da curva carga-deformação. A rigidez do material é a relação entre a tensão e a deformação relativa (expressa como a inclinação da curva que relaciona estes dois parâmetros). Ou seja, o aumento na deformação relativa é proporcional à força aplicada (de acordo com a Lei de Hooke), de forma que um material mais rígido se deformará menos sob a aplicação de uma mesma força externa.

Em estudos *in vivo* a deformação relativa do tecido tendíneo tem sido quantificada majoritariamente durante contrações voluntárias máximas. Magnusson *et al.* [62] relataram deformação relativa do tendão calcâneo de $4,4 \pm 5,6\%$, Muramatsu *et al.* [63] de $5,1 \pm 1,1\%$, Kubo *et al.* [56] de $5,2 \pm 1,4\%$ e Muraoka *et al.* [41] de $5,3 \pm 1,6\%$. Maganaris [64] relatou deslocamentos da JMT do tendão calcâneo de aproximadamente 2,5 e 0,4 cm para condições ativa e passiva, respectivamente.

2.2.2 Arquitetura Muscular – Parâmetros Estimados

Modelos matemáticos são representações simplificadas da realidade ou interpretações de fragmentos de um sistema formados por parâmetros de entrada, dispostos em equações. Sua aplicabilidade e validade são analisadas pela comparação do valor estimado pelo modelo com o medido, e estão vinculadas à capacidade de quantificação confiável dos parâmetros de entrada. As medidas da arquitetura muscular são importantes parâmetros de entrada para diversos modelos para estimativa da força muscular, como os modelos geométricos tipo-Hill [26,65,66,67]. Em alguns casos, são aplicados em estágios intermediários para estimativa de outros parâmetros de entrada como volume muscular, área de seção transversa fisiológica e braço de força que serão brevemente descritas a seguir.

2.2.2.1 Volume Muscular (VM)

O volume muscular é normalmente obtido através de imagens transversais sequenciais produzidas por técnicas de imagem como a TC e a RM. É estimado pelo somatório de volumes segmentares calculados pelo produto entre as áreas de seção transversa e a distância entre elas [46].

Miyatani *et al.* [12] investigaram a precisão e a confiabilidade da estimativa do volume muscular obtida a partir de medidas de EM de imagens ultrassônicas dos músculos flexores e extensores do cotovelo, extensores do joelho e flexores plantares. Para tanto, compararam o valor obtido para o VM com a técnica de ressonância magnética. Os autores utilizaram como modelo equações de regressão simples e múltiplas cujas variáveis eram os

valores de EM (simples) e EM e comprimento do membro (múltipla). A equação de regressão simples não satisfaz às condições para predição do VM, enquanto as de regressão múltipla demonstraram predições com coeficiente de determinação entre 0,787 e 0,884 para todos os grupos musculares examinados. A Tabela 2.1 contém as equações de predição do VM para flexores e extensores de cotovelo.

Tabela 2.1: Equações de regressão múltipla para estimativa do volume muscular (VM) de flexores e extensores de cotovelo, utilizando a espessura muscular (EM) e o comprimento do segmento (CS) (adaptada de Miytani [12])

MÚSCULOS	EQUAÇÃO	COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO
Flexores de cotovelo	$VM=113,7EM+11,6CS-443,7$	0,866
Extensores de cotovelo	$VM=90,3EM+30,5CS-908,2$	0,803

2.2.2.2 Área de Seção Transversa Anatômica (ASTA) e Área de Seção Transversa Fisiológica (ASTF)

A área de seção transversa anatômica corresponde à área do maior plano transversal do músculo, independente de sua geometria muscular. Já a área de seção transversa fisiológica é um parâmetro calculado, representando a soma da área de seção transversa de todas as fibras musculares (Figura 2.11). É um parâmetro importante na quantificação da capacidade de produção de força muscular. Em músculos fusiformes a ASTA é considerada igual à ASTF, no entanto, é necessário um redimensionamento relacionado ao ângulo de penação quando se trata de músculos penados. Para estimativa da ASTF, utiliza-se a razão entre o produto da massa muscular pelo cosseno do ângulo de penação e o produto entre a densidade muscular e o comprimento da fibra (Equação 1). Ward *et al.* [48] mediram a ASTF do sartório e solear de cadáveres e encontraram valores de 1,9 e 51,8 cm², respectivamente.

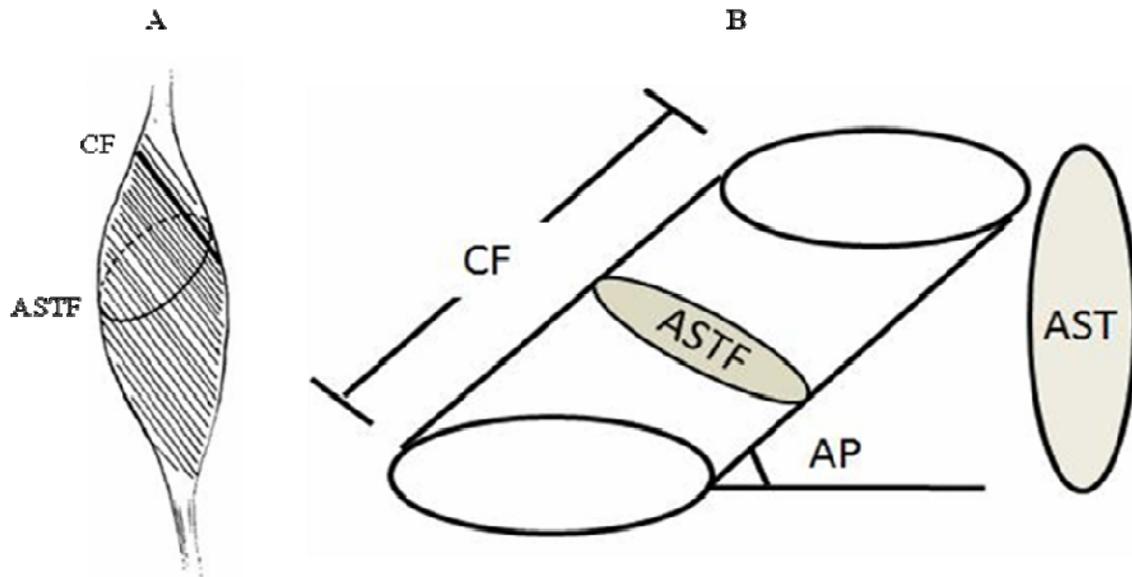


Figura 2.11: Esquema ilustrativo dos componentes da arquitetura muscular (A) do músculo penado (B) de uma fibra isolada.

$$ASTF \text{ (cm}^2\text{)} = \frac{\text{massa muscular (g)} \times \cos \theta}{\rho \text{ (g/cm}^3\text{)} \times \text{comprimento da fibra (cm)}} \quad 1$$

Braço de Força (BF)

Conceitualmente, o braço de força é a distância perpendicular entre a linha de ação do músculo e o eixo de rotação da articulação [37]. Durante um movimento articular esta distância apresenta variações, dependendo das características anatômicas da articulação em questão. O BF é um parâmetro fundamental em modelos mecânicos para a estimativa da participação de grupos musculares na produção do torque articular.

O BF pode ser medido diretamente pela RM ou TC ou estimado a partir de dados antropométricos [66] ou da US [26,68]. Para estimativas *in vivo*, com a utilização da US, é utilizado o método de excursão do tendão [69] adaptado [68,70], que considera o BF como a razão entre o deslocamento da junção miotendínea durante um movimento passivo (ΔL) da articulação e a amplitude deste movimento ($\Delta \phi$) e é representativo do ângulo referente à metade desta amplitude (Equação 2).

$$BF = \frac{\Delta L}{\Delta \varphi} \quad 2$$

Maganaris *et al.* [59] encontraram valores em torno de 4,7 cm para o BF do músculo gastrocnêmio. Outros métodos empregados na determinação deste parâmetro, têm demonstrado resultados similares aos de Maganaris *et al.* [53] com valores de 4,4 a 5,5 cm, utilizando o método do centro de rotação por RM.

CAPÍTULO 3

METODOLOGIA

Neste capítulo serão apresentados e descritos os materiais e a metodologia utilizados na criação e medição do *phantom* e validação da rotina computacional desenvolvida.

3.1 CONFECÇÃO DO *PHANTOM*

Os equipamentos utilizados na confecção do *phantom* foram uma balança, com resolução de 0,01g (modelo Adventurer, Ohaus), agitador magnético com aquecimento (modelo NT 105, Nova Técnica Ind. Com. Equipamentos para Laboratório Ltda.), bomba de vácuo (modelo 166, Primar Equipamentos e Serviços Ltda.), ultrapurificador de água (modelo Purelab Option-Q, Elga LabWater Global Operations), termômetro, Becker e agitador de vidro, molde de acrílico, fios de aço inoxidável e um refrigerador convencional.

A composição do *phantom* está descrita na Tabela 3.1.

Tabela 3.1: Composição do *phantom*

MATERIAL	MASSA (g)
Agar	16,85
Água destilada	500
Detergente	33,33
Glicerina	63,15
Grafite	2,1
PVC	33,58

A confecção do *phantom* seguiu o protocolo de confecção de Basto [71], modificado pela adição de glicerina. Esta alteração teve o objetivo de diminuir o coeficiente de atenuação do *phantom* proposto, gerando imagens, do mesmo e de suas estruturas internas, mais parecidas com as do músculo *in vivo*. A mistura foi iniciada com adição de pó de PVC e grafite em um Becker, ambos peneirados para um tamanho máximo de 35 mm. Com o intuito de minimizar a formação de grumos dos pós de grafite e/ou PVC, foi adicionado o detergente líquido. O anti-espumante presente neste dispersante minimizou a formação de bolhas na mistura que poderiam alterar as propriedades acústicas do *phantom*. Em seguida, misturou-se a glicerina e a cola. A água destilada e o pó de ágar foram

adicionados. Este foi utilizado devido a suas propriedades gelificadoras, seu alto ponto de fusão e ao fato de sua mistura com glicerina apresentar uma velocidade de propagação da onda ultra-sônica de 1540 m/s a uma temperatura de $24,5 \pm 0,1^\circ\text{C}$, valor semelhante ao do tecido humano.

Após a combinação de todos os ingredientes, a mistura, ainda em estado líquido, foi colocada por aproximadamente 1 hora na bomba de vácuo para a redução da quantidade de bolhas de ar.

Em seguida, o *phantom* (coberto com papel alumínio para evitar a perda de água) foi colocado no aquecedor, tendo sua temperatura elevada até aproximadamente 75°C . Durante o aquecimento, buscou-se a homogeneização do material, misturando-se manual e periodicamente.

A mistura foi colocada no molde e resfriada em refrigerador comum até o momento de sua solidificação. Uma amostra foi depositada em um molde cilíndrico de 5,2 x 2,8 cm de diâmetro e altura respectivamente, para a medição de suas propriedades acústicas.

O molde de acrílico onde foi colocado o *phantom*, utilizado na aquisição das imagens, tem como dimensões internas 13,4 x 9 x 4 cm de comprimento, altura e largura respectivamente. Dentro do mesmo foram fixados fios de aço inoxidável com diâmetro de 0,6 mm e comprimentos variáveis. A determinação da posição dos fios foi determinada de acordo com características de tecido muscular esquelético e estão ilustradas na Figura 3.1.



Figura 3.1: Molde e posicionamento dos fios do *phantom*.

3.2 PARÂMETROS ACÚSTICOS DO *PHANTOM*

Foi realizada a caracterização de dois parâmetros acústicos do *phantom*, velocidade de propagação e atenuação da onda, para verificação das similaridades com o tecido muscular esquelético, tendo em vista a influência destas características na formação das imagens e respectivas medições.

Compõem o sistema de aquisição para medição das propriedades acústicas da amostra do *phantom*: computador, placa de transmissão e recepção (modelo SR-9000, Matec Instruments Company), osciloscópio (modelo TDS2024B, Tektronix), alvo refletor de alumínio cilíndrico (12 cm de diâmetro por 5 cm de altura), tanque com água destilada, transdutor ultrassônico com frequência de 1MHz (Harisonic 13-1008-R, Olympus Corporation).

Foi utilizado o método de substituição em que dois percursos da onda ultrassônica são analisados [72]. O primeiro percurso (referência) consiste na distância percorrida pelo pulso ultrassônico entre o transdutor e a placa de alumínio refletora. O segundo entre o transdutor e o *phantom* (colocado sobre a placa de alumínio). A amplitude e o intervalo de tempo entre os ecos são captados pelo osciloscópio e armazenados no computador.

Dez sinais foram coletados e processados em Matlab® (MathWorks). A partir destes dados e da altura do *phantom* (medida com paquímetro), foi realizado o cálculo da velocidade e o coeficiente de atenuação acústica.

3.3 SISTEMA E PROTOCOLO DE AQUISIÇÃO DAS IMAGENS

O sistema de aquisição consistiu de um aparelho de ultrassom modo-B (modelo EUB-405, Hitachi Medical Corp.), com um transdutor linear de frequência fundamental de 7,5 MHz (matriz de 512 elementos, campo de imagem de 65x80,3 mm) e um computador.

O transdutor foi fixado em um sistema de posicionamento mecânico triaxial, com avanço micrométrico que permitia movimentos da ordem de milímetros e sua posição era determinada de acordo com a melhor imagem para cada parâmetro, assim como o foco. O cabeçote e o *phantom* foram imersos em água para evitar qualquer possível compressão e desgaste deste além de melhor acoplamento acústico (Figura 3.2).

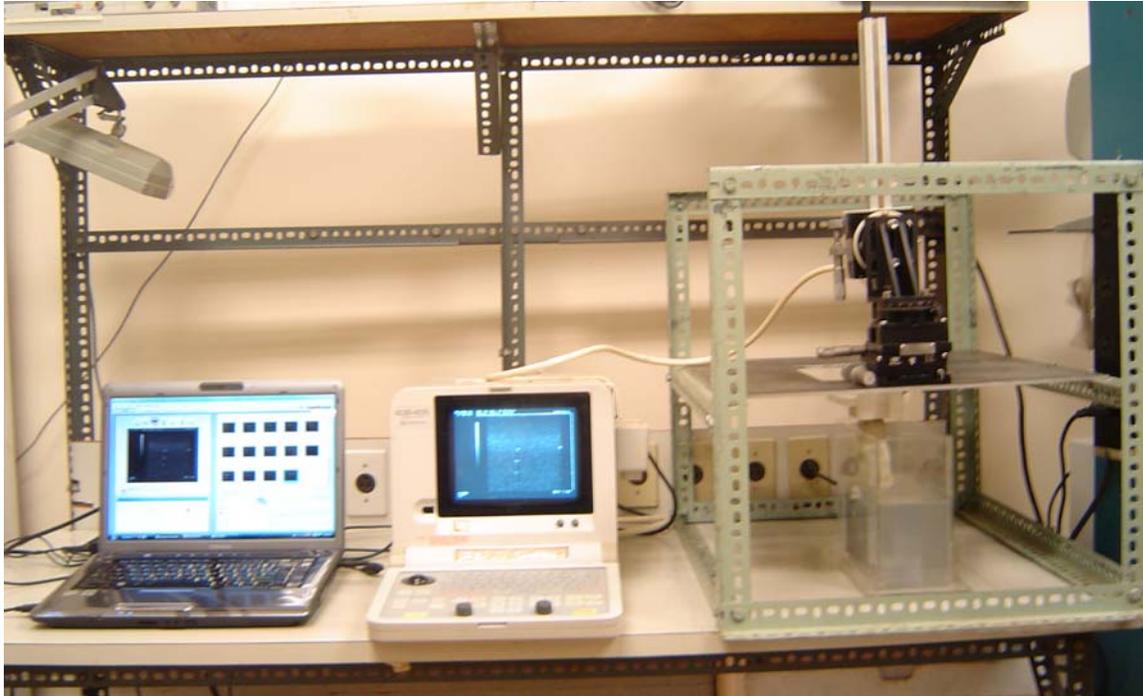


Figura 3.2: Esquema experimental.

Para cada parâmetro analisado, foram coletados dois vídeos para posterior escolha da melhor imagem. As imagens foram digitalizadas com uma frequência de 30 quadros/segundo, por uma placa de captura (DVD EZMaker USB Gold, AVerMedia Technologies Inc.) e software (CyberLink Power Director v5, CyberLink Corp.). Os vídeos foram convertidos em seqüências de imagens pelo software Free Video to JPG Converter 1.4.2.1 (DVDVideoSoft Limited) para posterior análise.

3.4 PROTOCOLO DE QUANTIFICAÇÃO DAS IMAGENS

Foram desenvolvidas cinco rotinas em Labview® para processamento das imagens e quantificação dos seguintes parâmetros: distância horizontal (DH1, DH2 e DH3, Figura 3.3); distância vertical (DV1, DV2, DV3, DV4, DV5 e DV6, Figura 3.4); comprimento de reta (CR1 E CR2, Figura 3.5); ângulo entre retas (ANG1, ANG2 e ANG3, Figura 3.6) e deslocamento de ponto (DE1, DE2 E DE3).

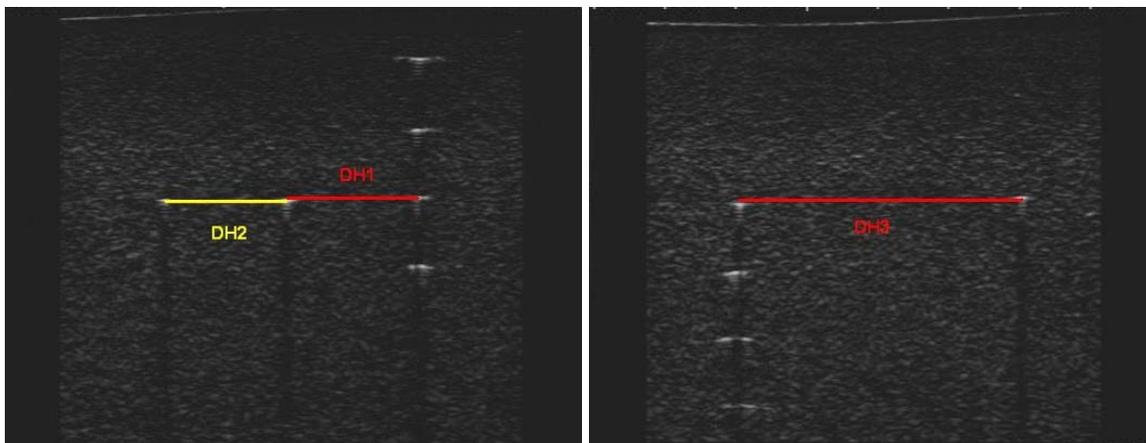


Figura 3.3: Imagem dos parâmetros (A) DH1 e DH2; (B) DH3.

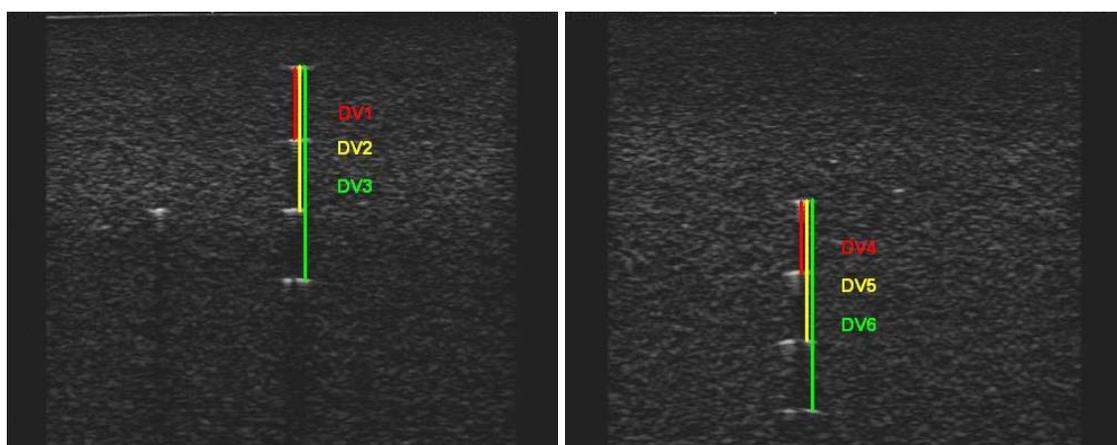


Figura 3.4: Imagem dos parâmetros (A) DV1, DV2 e DV3; (B) DV4, DV5 e DV6.

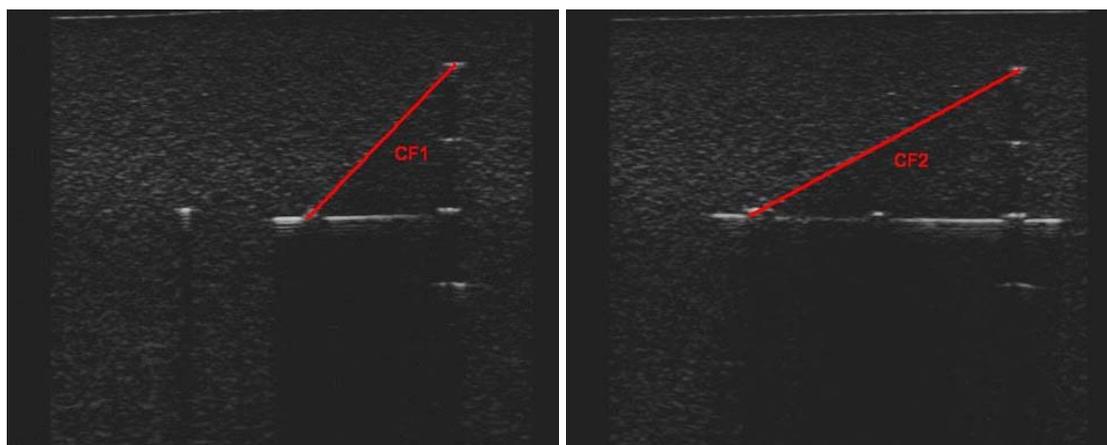


Figura 3.5: Imagem dos parâmetros (A) CF1; (B) CF2.

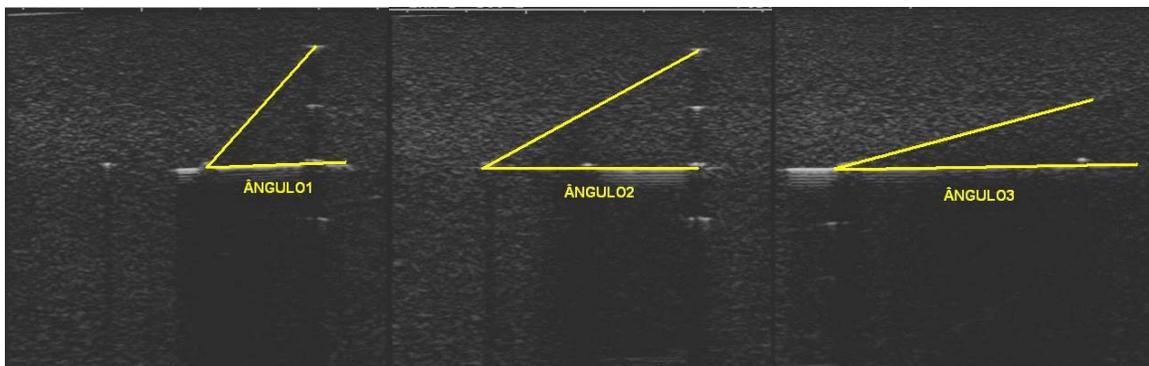


Figura 3.6: Imagem dos parâmetros (A) ANG1; (B) ANG2; (C) ANG.

Os parâmetros criados no *phantom* e posteriormente analisados nas imagens são compatíveis aos encontrados no tecido muscular esquelético. A DH e a DV têm relação com a espessura muscular (dependendo da orientação do transdutor), o CR com o comprimento de fibra, o ANG com o ângulo de penetração e o DE com deslocamentos, passivo ou ativo, de estruturas como a junção miotendínea.

Cada avaliador quantificou três distâncias horizontais e seis distâncias verticais (em profundidades diferentes) entre os pontos hiperecóticos das imagens correspondentes aos fios presentes no molde. As rotinas consistiam na marcação dos pontos centrais dos ecos dos pinos pelo avaliador. A distância linear em pixels destes pontos com coordenadas (x, y) foi convertida em centímetros e fornecida pelo software. A resolução (dimensão do pixel) nas medidas foi de 0,015 e 0,016 cm para as horizontais e verticais, respectivamente.

O comprimento dos fios posicionados diagonalmente no molde foram quantificados seguindo o mesmo procedimento de marcação de pontos em que o avaliador escolhia a interseção entre os fios diagonais e horizontais e/ou entre os fios e os pinos, obtendo a distância entre os pontos designados. A resolução desta rotina foi de 0,015 cm. Estas medidas, DH e DV também foram realizadas com o paquímetro convencional (P), diretamente no *phantom* e nas imagens geradas no monitor do próprio aparelho de ultrassom com o paquímetro eletrônico (U)

Os ângulos formados entre as retas correspondentes aos ecos dos fios posicionados horizontalmente e os três posicionados diagonalmente no molde foram quantificados a partir de dois protocolos em que o avaliador escolhia dois (2P) e cinco pontos (5P) sobre cada uma das retas, e o software fornecia o valor do ângulo entre as mesmas. No protocolo

de 5P, as retas foram ajustadas por mínimos quadrados. A resolução nas medidas dos ângulos foi de $0,8^\circ$. Estas medidas também foram realizadas diretamente no *phantom* com transferidor (T).

Na quinta rotina, desenvolvida para quantificar o deslocamento de um ponto, o avaliador seguia a mesma metodologia de marcação de dois e cinco pontos sobre as retas cuja interseção correspondia ao ponto a ser monitorado. A marcação era realizada em um quadro inicial anterior ao deslocamento do transdutor e em um quadro final após o movimento, resultando na determinação do mesmo ponto em cada um dos quadros e no cálculo da distância entre os dois. No protocolo com a demarcação de 5 pontos, as retas também foram ajustadas por mínimos quadrados. A resolução para esta medição também foi de 0,015 cm.

Para todos os parâmetros, dez quadros de cada vídeo foram selecionados em intervalos diferentes a partir do início do vídeo. Em cada um dos quadros, foram realizadas cinco medições independentes, sem ordem pré-determinada de quadro e variável analisada (no caso das distâncias medidas nas mesmas imagens), totalizando 50 medidas para cada um dos parâmetros por avaliador. Quatro avaliadores com experiência em análise de imagens ultrassônicas realizaram as medidas de forma independente, recebendo as mesmas instruções, exemplos e procedimentos de familiarização com o software. Os avaliadores receberam inicialmente cinco quadros de imagens de cada variável, sendo as outras cinco fornecidas sem associação com as anteriores após o término da quantificação das primeiras.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Após o processamento das imagens através da rotina computacional pelos quatro avaliadores e das medições realizadas com paquímetro convencional, transferidor e equipamento de US, foram realizadas as análises estatísticas no software STATISTICA® (StatSoft Inc., EUA). Após a estatística descritiva de todos os parâmetros medidos por cada avaliador e/ou técnica, foram aplicados testes para comparação de médias, com o intuito de determinar a dispersão, confiabilidade das medidas e variações interavaliadores e entre protocolos. Os parâmetros testados foram: distâncias vertical e horizontal, comprimento de reta, deslocamento e ângulo entre as retas. Os valores dos quatro avaliadores foram

comparados com os obtidos no paquímetro convencional, eletrônico e no transferidor, através dos seguintes testes com nível de significância $p < 0,05$:

- Teste de aderência (Kolmogorov-Smirnov) para verificar a aproximação da distribuição dos dados observados com a distribuição normal teórica de cada parâmetro;
- Teste de Mann-Whitney-Wilcoxon para verificar diferenças dos parâmetros distância horizontal (DH1, DH2 e DH3), distância vertical (DV1, DV2, DV3, DV4, DV5 e DV6) e comprimento de reta (CR1 e CR2) entre as medidas com paquímetro convencional (P) e eletrônico (U);
- Análise de variância e teste de Kruskal-Wallis para verificar diferenças dos parâmetros distância horizontal (DH1, DH2 e DH3), distância vertical (DV1, DV2, DV3, DV4, DV5 e DV6), comprimento de reta (CR1 e CR2) entre os avaliadores (A1, A2, A3 e A4), as medidas com paquímetro convencional (P) e eletrônico (U);
- Teste de Mann-Whitney-Wilcoxon para verificar diferenças entre as medidas de distância vertical realizadas em diferentes profundidades (DV1 e DV4; DV2 e DV5; DV3 e DV6) dos avaliadores (A1, A2, A3 e A4), medidas com paquímetro convencional (P) e eletrônico (U);
- Análise de variância e teste de Kruskal-Wallis para verificar diferenças do parâmetro ângulo (ANG1_2P, ANG1_5P, ANG2_2P, ANG2_5P, ANG3_2P e ANG3_5P) entre os avaliadores (A1, A2, A3 e A4) e as medidas com transferidor (T);
- Teste de Mann-Whitney-Wilcoxon para verificar diferenças entre as medidas de ângulo realizadas com dois protocolos diferentes (2P e 5P) (ANG1_2P e ANG1_5P; ANG2_2P e ANG2_5P; ANG3_2P e ANG3_5P) dos avaliadores (A1, A2, A3 e A4);
- Análise de variância e teste de Kruskal-Wallis para verificar diferenças do parâmetro deslocamento (DE1_2P, DE1_5P, DE2_2P, DE2_5P, DE3_2P e DE3_5P) entre os avaliadores (A1, A2, A3 e A4);
- Teste de Mann-Whitney-Wilcoxon para verificar diferenças entre as medidas de deslocamento realizadas com dois protocolos diferentes (2P e 5P) (DE1_2P e

DE1_5P; DE2_2P e DE2_5P; DE3_2P e DE3_5P) dos avaliadores (A1, A2, A3 e A4);

- Coeficiente de Variação de todos os parâmetros.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS

As propriedades acústicas medidas na amostra do *phantom* utilizado no estudo se encontram na faixa esperada para tecidos moles (1516 m/s e 0,18 dB/cm, velocidade e atenuação, respectivamente).

Foram obtidas dez medidas dos parâmetros de distância horizontal e vertical com o paquímetro eletrônico do equipamento de ultrassom (U) e dez medidas destas distâncias e dos ângulos diretamente no *phantom* através de paquímetro convencional (P) e transferidor (T), respectivamente. Com o software desenvolvido, foram realizadas 50 medições de cada parâmetro por avaliador, totalizando 200 medidas. Os dados estatísticos de média, desvio-padrão e coeficiente de variação são apresentados a seguir.

4.1 DISTÂNCIAS HORIZONTAIS (DH1, DH2 E DH3)

Os dados de média, desvio-padrão (dp) e coeficiente de variação (CV) dos três parâmetros de distância horizontal (DH1, DH2 e DH3) medidos através do paquímetro eletrônico do equipamento de ultrassom (n=10) e dos valores de distância medidos diretamente no *phantom* através de paquímetro convencional (n=10) estão dispostos na Tabela 4.1.

Os valores de média, desvio-padrão e coeficiente de variação dos quatro avaliadores (n=200) são apresentados na Tabela 4.2.

Tabela 4.1: Média \pm desvio-padrão (dp) e coeficiente de variação (CV) dos três parâmetros de distância horizontal (DH1, DH2 e DH3) medidos com paquímetro convencional e paquímetro eletrônico do equipamento de ultrassom (n=10). * diferença estatisticamente significativa entre os métodos de medição

	PAQUÍMETRO CONVENCIONAL		PAQUÍMETRO ELETRÔNICO	
	Média \pm dp (cm)	CV(%)	Média \pm dp (cm)	CV(%)
DH1	1,82 \pm 0,02	0,93	1,82 \pm 0,01	0,75
DH2*	1,63 \pm 0,00	0,30	1,68 \pm 0,01	0,71
DH3	3,98 \pm 0,04	0,93	3,98 \pm 0,01	0,38

Tabela 4.2: Média \pm desvio-padrão (dp) e coeficiente de variação (CV) dos três parâmetros de distância horizontal (DH1, DH2 e DH3) medidos com software pelos 4 avaliadores (A1, A2, A3 e A4) (n=50 por avaliador)

	A1		A2		A3		A4	
	Média \pm dp (cm)	CV(%)						
DH1	1,82 \pm 0,01	0,57	1,84 \pm 0,02	0,90	1,82 \pm 0,02	1,13	1,83 \pm 0,02	1,17
DH2	1,68 \pm 0,01	0,58	1,69 \pm 0,01	0,78	1,69 \pm 0,02	1,18	1,70 \pm 0,01	0,86
DH3	3,98 \pm 0,01	0,25	4,01 \pm 0,03	0,75	3,98 \pm 0,02	0,53	4,01 \pm 0,03	0,72

As Figuras 4.1, 4.2 e 4.3 demonstram a dispersão e comparação dos dados de distância horizontal (DH1, DH2 e DH3) entre os quatro avaliadores, as medidas realizadas com paquímetro convencional (P) e eletrônico (U).

Para DH1, foi detectada diferença estatisticamente significativa entre o avaliador A2 com A1 e A3 (Figura 4.1), mostrando uma tendência de superestimativa dos valores por parte deste avaliador. Esta tendência se manteve em DH2, com diferença entre A2 com A1, A3, P e U. O parâmetro DH2 mostrou uma média das medições realizadas com paquímetro (P) significativamente inferior às demais, com exceção do US (U) e uma tendência de valores mais baixos também para as medidas realizadas diretamente no US, com diferença significativa somente para um avaliador (A2) (Figura 4.2). O parâmetro DH3 demonstrou perfil de distribuição semelhante ao de DH1 (Figura 4.3). A tendência de medidas mais elevadas dos avaliadores A2 e A4 se tornou mais evidente para os parâmetros DH2 e DH3.

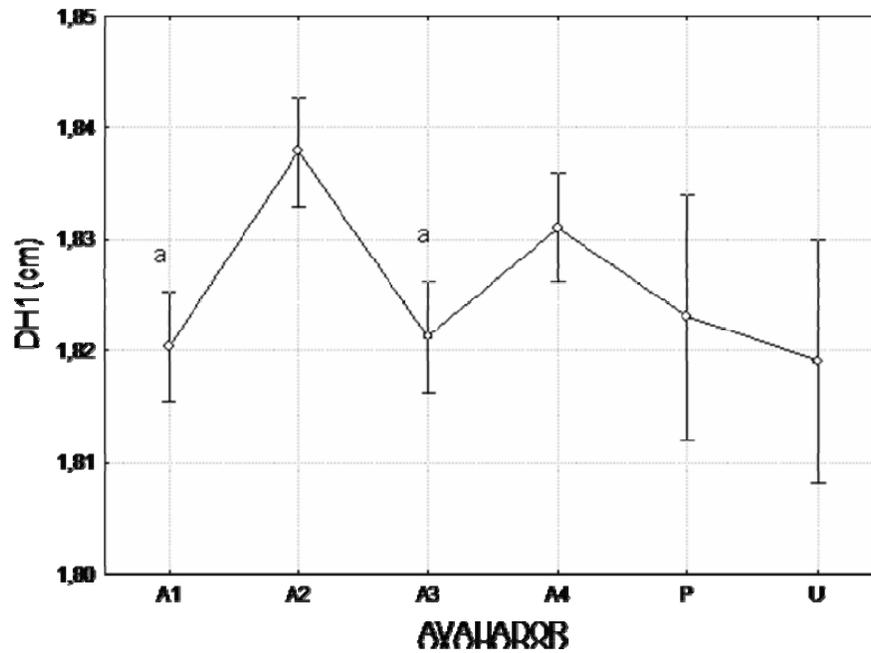


Figura 4.1: Valores médios e intervalos de confiança (95%) de DH1 de A1, A2, A3, A4, P e U. Diferença estatisticamente significativa para (a) A2.

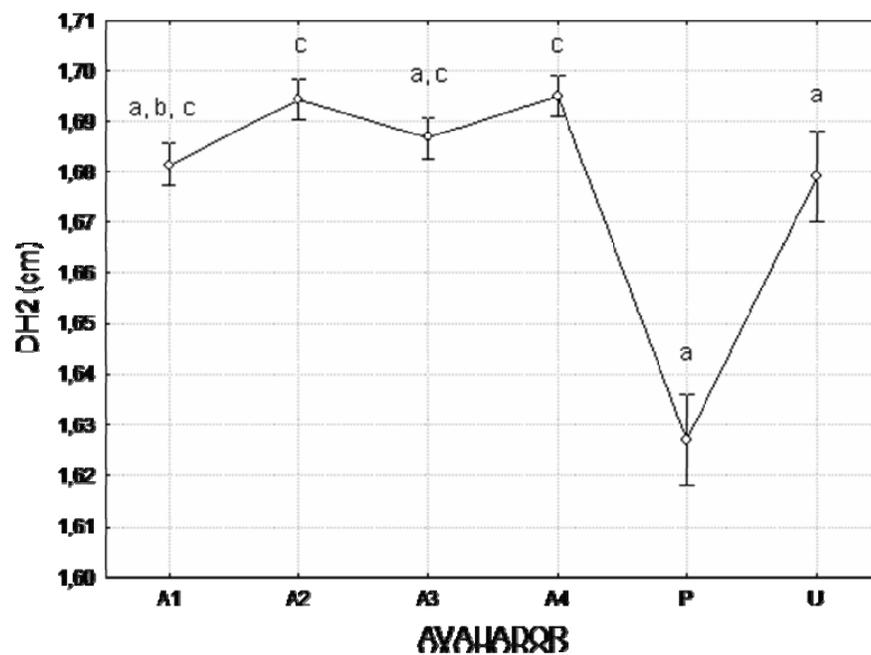


Figura 4.2: Valores médios e intervalos de confiança (95%) de DH2 de A1, A2, A3, A4, P e U. Diferença estatisticamente significativa para (a) A2; (b) A4; (c) P.

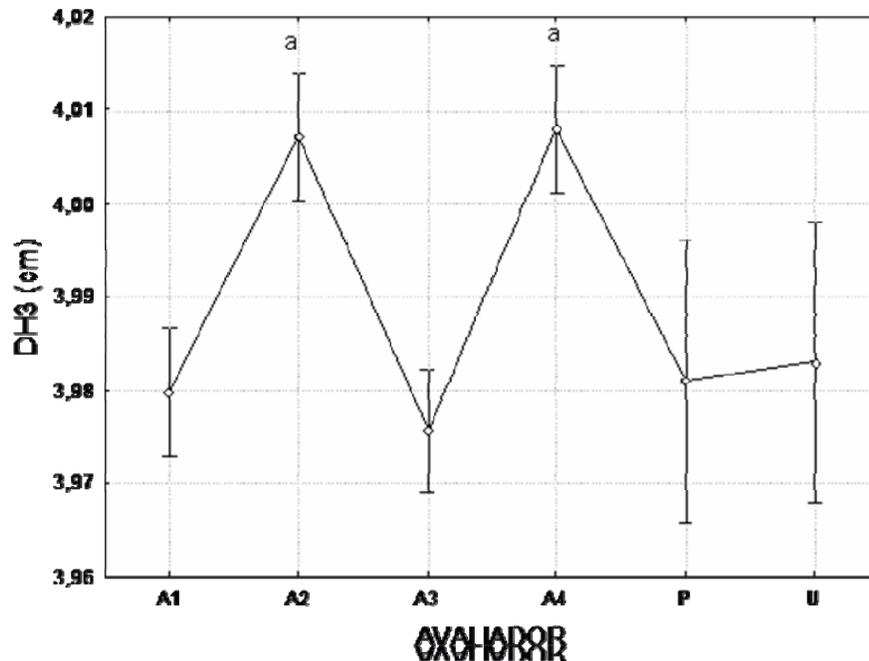


Figura 4.3: Valores médios e intervalos de confiança (95%) de DH3 de A1, A2, A3, A4, P e U. Diferença estatisticamente significativa para (a) A1 e A3.

4.2 DISTÂNCIAS VERTICAIS (DV1, DV2, DV3, DV4, DV5 E DV6)

Os dados de média, desvio-padrão (dp) e coeficiente de variação (CV) dos seis parâmetros de distância vertical (DV1, DV2, DV3, DV4, DV5 e DV6) medidos através do paquímetro eletrônico do equipamento de ultrassom (n=10) e dos valores de distância medidos diretamente no *phantom* através de paquímetro convencional estão dispostos na Tabela 4.3.

Os valores de média, desvio-padrão e coeficiente de variação dos quatro avaliadores (n=200) são apresentados na Tabela 4.4.

Tabela 4.3: Média \pm desvio-padrão (dp) e coeficiente de variação (CV) dos seis parâmetros de distância vertical (DV1, DV2, DV3, DV4, DV5 e DV6) medidos com paquímetro convencional e paquímetro eletrônico do equipamento de ultrassom (n=10). * diferença estatisticamente significativa entre os métodos de medição

	PAQUÍMETRO CONVENCIONAL		PAQUÍMETRO ELETRÔNICO	
	Média \pm dp (cm)	CV(%)	Média \pm dp (cm)	CV(%)
DV1*	1,04 \pm 0,00	0,00	1,05 \pm 0,01	1,11
DV2*	2,06 \pm 0,01	0,31	2,08 \pm 0,01	0,44
DV3*	3,07 \pm 0,00	0,10	3,09 \pm 0,01	0,40
DV4*	1,02 \pm 0,00	0,41	1,04 \pm 0,01	0,81
DV5*	2,02 \pm 0,01	0,26	2,03 \pm 0,00	0,21
DV6*	3,03 \pm 0,00	0,16	3,04 \pm 0,00	0,10

Tabela 4.4: Média \pm desvio-padrão (dp) e coeficiente de variação (CV) dos seis parâmetros de distância vertical (DV1, DV2, DV3, DV4, DV5 e DV6) medidos com software pelos 4 avaliadores (A1, A2, A3 e A4) (n=50 por avaliador)

	A1		A2		A3		A4	
	Média \pm dp (cm)	CV(%)						
DV1	1,05 \pm 0,01	1,18	1,05 \pm 0,01	1,02	1,04 \pm 0,02	1,48	1,05 \pm 0,01	0,91
DV2	2,06 \pm 0,01	0,56	2,05 \pm 0,01	0,68	2,06 \pm 0,02	0,84	2,06 \pm 0,01	0,57
DV3	3,07 \pm 0,01	0,38	3,08 \pm 0,01	0,44	3,07 \pm 0,02	0,54	3,08 \pm 0,01	0,28
DV4	1,01 \pm 0,01	0,89	1,02 \pm 0,01	1,14	1,01 \pm 0,02	1,61	1,03 \pm 0,01	0,76
DV5	2,00 \pm 0,01	0,50	2,02 \pm 0,01	0,68	2,02 \pm 0,02	0,94	2,02 \pm 0,01	0,58
DV6	3,02 \pm 0,01	0,36	3,03 \pm 0,01	0,49	3,02 \pm 0,02	0,57	3,02 \pm 0,01	0,42

As Figuras 4.4, 4.5 e 4.6 demonstram a dispersão e comparação dos dados de distância vertical agrupando-os de acordo com a amplitude e profundidade em que os parâmetros foram medidos (DV1 e DV4; DV2 e DV5; DV3 e DV6) entre os quatro avaliadores, as medidas realizadas no *phantom* com paquímetro convencional (P) e aquelas realizadas diretamente no aparelho de ultrassom (U).

Os parâmetros tendem a seguir o mesmo padrão de distribuição em relação aos avaliadores, com valores mais próximos dos obtidos com o paquímetro. Já U apresentou valores mais altos, com diferenças estatisticamente significativas em relação à maioria dos avaliadores nas duas profundidades (Figuras 4.4, 4.5 e 4.6).

Foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre as duas profundidades nos três pares de parâmetros (DV1 e DV4; DV2 e DV5; DV3 e DV6) para todos avaliadores e as medições realizadas com paquímetro convencional (P) e eletrônico (U) (Figuras 4.4, 4.5 e 4.6).

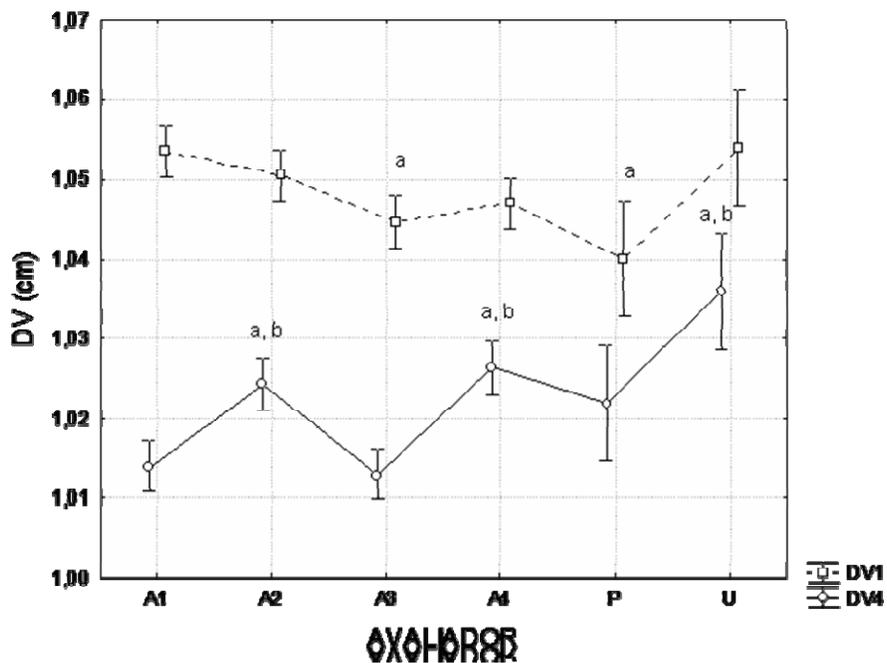


Figura 4.4: Valores médios e intervalos de confiança (95%) de DV1 e DV4 de A1, A2, A3, A4, P e U. Diferença estatisticamente significativa na mesma variável para (a) A1; (b) A3. Diferença estatisticamente significativa entre DV1 e DV4 para todos os avaliadores, P e U.

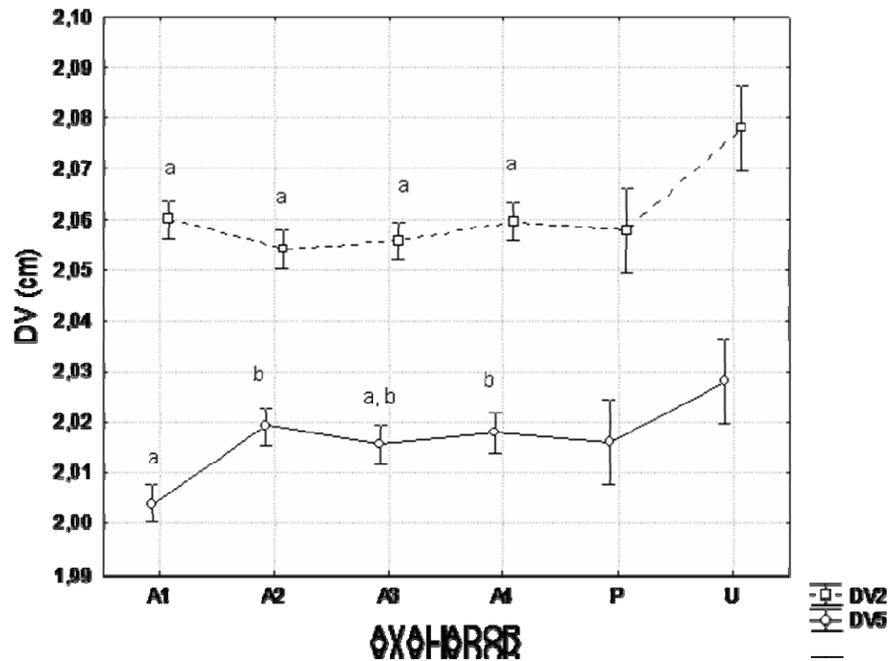


Figura 4.5: Valores médios e intervalos de confiança (95%) de DV2 e DV5 de A1, A2, A3, A4, P e U. Diferença estatisticamente significativa na mesma variável para (a) U; (b) A1. Diferença estatisticamente significativa entre DV2 e DV5 para todos os avaliadores.

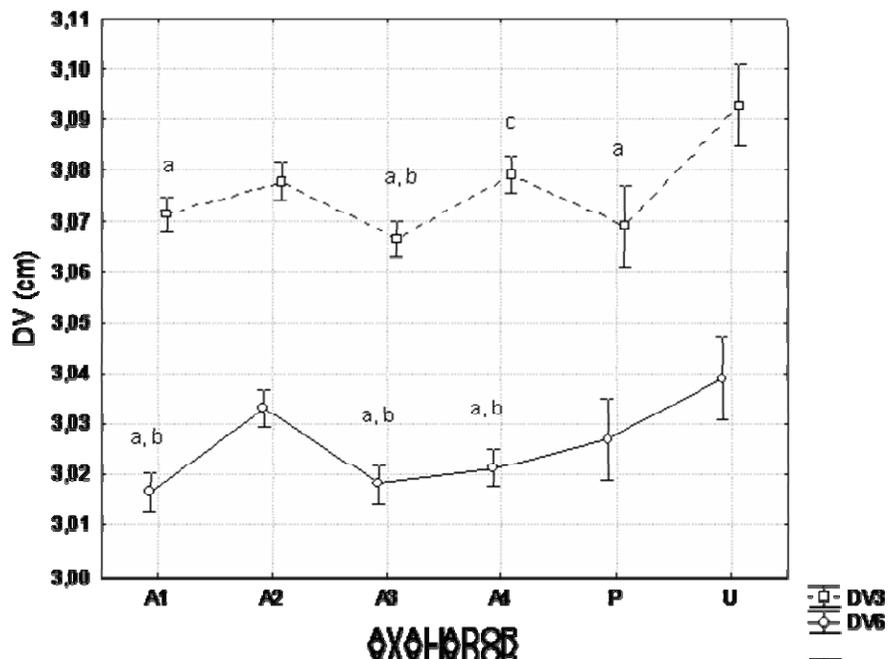


Figura 4.6: Valores médios e intervalos de confiança (95%) de DV3 e DV6 de A1, A2, A3, A4, P e U. Diferença estatisticamente significativa na mesma variável para (a) U; (b) A2; (c) A3. Diferença estatisticamente significativa entre DV3 e DV6 para todos os avaliadores.

4.3 COMPRIMENTOS (CR1 E CR2)

Os dados de média, desvio-padrão (dp) e coeficiente de variação (CV) dos dois parâmetros de comprimento de reta (CR1 e CR2) medidos através de paquímetro eletrônico do equipamento de ultrassom (n=10) e dos valores de distância medidos diretamente no *phantom* através de paquímetro convencional estão dispostos na Tabela 4.5.

Os valores de média, desvio-padrão e coeficiente de variação dos quatro avaliadores (n=200) são apresentados na Tabela 4.6.

Tabela 4.5: Média \pm desvio-padrão (dp) e coeficiente de variação (CV) dos dois parâmetros de comprimento de reta (CR1 e CR2) medidos com paquímetro convencional e paquímetro eletrônico do equipamento de ultrassom (n=10). * diferença estatisticamente significativa entre os métodos de medição

	PAQUÍMETRO CONVENCIONAL		PAQUÍMETRO ELETRÔNICO	
	Média \pm dp (cm)	CV(%)	Média \pm dp (cm)	CV(%)
CR1*	2,86 \pm 0,02	0,53	2,83 \pm 0,01	0,49
CR2*	4,16 \pm 0,01	0,16	4,06 \pm 0,02	0,44

Tabela 4.6: Média \pm desvio-padrão (dp) e coeficiente de variação (CV) dos dois parâmetros de comprimento de reta (CR1 e CR2) medidos com software pelos 4 avaliadores (A1, A2, A3 e A4) (n=50 por avaliador)

	A1		A2		A3		A4	
	Média \pm dp (cm)	CV(%)						
CR1	2,98 \pm 0,01	0,48	2,97 \pm 0,01	0,39	3,00 \pm 0,02	0,68	2,98 \pm 0,01	0,39
CR2	4,34 \pm 0,02	0,54	4,21 \pm 0,02	0,37	4,26 \pm 0,02	0,46	4,18 \pm 0,02	0,44

As Figuras 4.7 e 4.8 apresentam a dispersão e a comparação dos dados de comprimento de reta (CR1 e CR2) entre os quatro avaliadores, as medidas realizadas no *phantom* com paquímetro (P) e aquelas realizadas diretamente no aparelho de ultrassom (U).

Assim como para os parâmetros de distância, é possível notar uma tendência de padrão de distribuição dos valores entre os avaliadores. Para os dois comprimentos de reta, os avaliadores 1 e 3 obtiveram os maiores valores em relação a todas as outras medidas (Figuras 4.7 e 4.8). Além disso, as medidas obtidas através de paquímetro convencional e paquímetro eletrônico foram significativamente inferiores às dos avaliadores, com exceção de A4 em CR2.

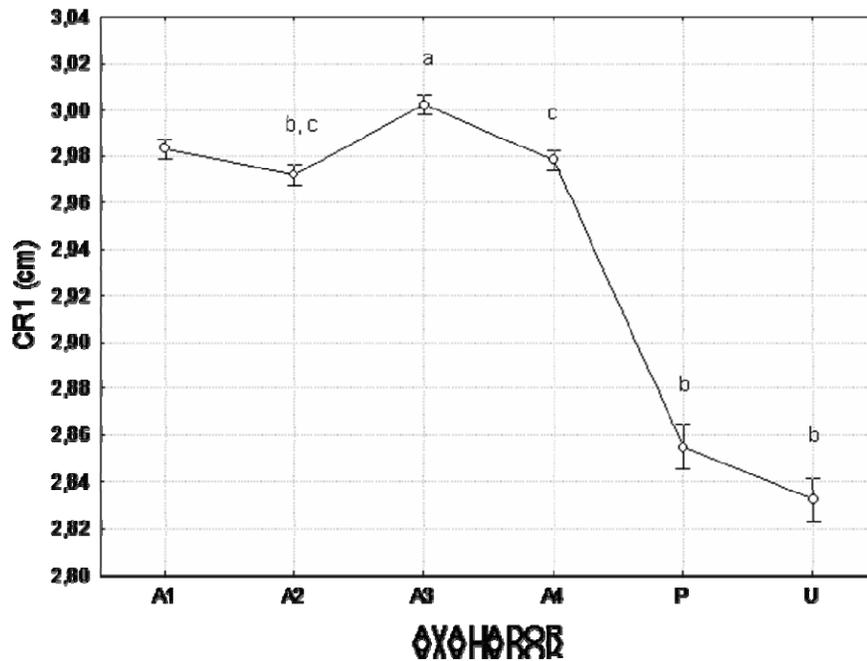


Figura 4.7: Valores médios e intervalos de confiança (95%) de CR1 de A1, A2, A3, A4, P e U. Diferença estatisticamente significativa para (a) todos; (b) A1; (c) A5 e A6.

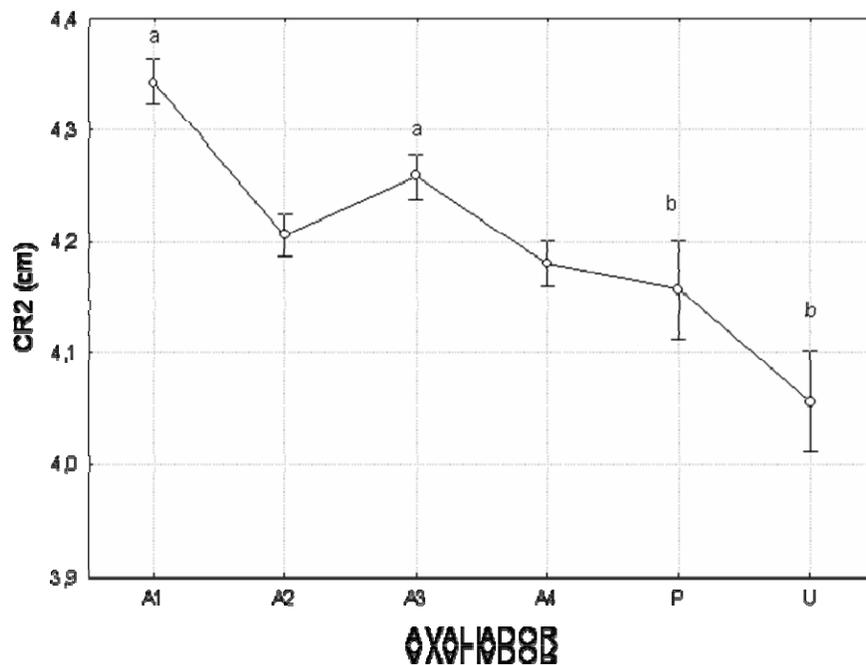


Figura 4.8: Valores médios e intervalos de confiança (95%) de CR2 de A1, A2, A3, A4, P e U. Diferença estatisticamente significativa para (a) todos; (b) A2.

4.4 ÂNGULOS (ANG1, ANG2 E ANG3)

Os dados de média, desvio-padrão (dp) e coeficiente de variação (CV) dos três parâmetros de ângulo (ANG1, ANG2 e ANG3) medidos diretamente no *phantom* através de transferidor estão dispostos na Tabela 4.7 e os valores quantificados através de dois protocolos (2P e 5P) dos quatro avaliadores (n=200) são apresentados na Tabela 4.8.

Tabela 4.7: Média, desvio-padrão (dp) e coeficiente de variação (CV) dos três parâmetros de ângulo (ANG1, ANG2 e ANG3) medidos diretamente no *phantom* através de transferidor (n=10)

	TRANSFERIDOR	
	Média ± dp (°)	CV(%)
ANG1	47,85±0,53	1,11
ANG2	30,50±0,24	0,77
ANG3	15,50±0,00	0,00

Tabela 4.8: Média ± desvio-padrão (dp) e coeficiente de variação (CV) dos três ângulos quantificados através de dois protocolos (ANG1_2P, ANG2_2P, ANG3_2P, ANG1_5P, ANG2_5P, ANG3_5P) medidos com software pelos 4 avaliadores (A1, A2, A3 e A4) (n=50 por avaliador)

	A1		A2		A3		A4	
	Média ± dp (°)	CV(%)						
ANG1_2P	45,90±0,36	0,78	45,75±0,90	1,98	45,23±1,21	2,67	45,06±1,23	2,72
ANG2_2P	28,98±0,60	2,07	27,28±0,70	2,55	27,03±1,56	5,78	29,32±0,90	3,05
ANG3_2P	14,86±0,32	2,13	15,18±0,59	3,86	14,41±0,74	5,11	14,64±0,50	3,39
ANG1_5P	45,43±0,45	0,99	45,36±0,76	1,68	44,88±0,95	2,12	45,09±0,94	2,08
ANG2_5P	28,87±0,52	1,80	27,77±0,91	3,27	26,92±1,28	4,77	29,44±0,75	2,54
ANG3_5P	14,82±0,18	1,23	15,33±0,59	3,84	14,36±0,77	5,38	14,58±0,70	4,77

As Figuras 4.9, 4.10 e 4.11 demonstram a dispersão e comparação dos dados de ângulo (ANG1, ANG2 e ANG3) entre os quatro avaliadores, para os dois protocolos de quantificação (2P e 5P) e a medida realizada com transferidor diretamente no *phantom*.

Houve diferença estatística entre os dois protocolos para A1 e A2 em ANG1 e A2 em ANG2. Nota-se variações interavaliadores estatisticamente significativas (Figuras 4.9, 4.10 e 4.11). Além disso, é notável a tendência de valores mais elevados para as medições

realizadas com o transferidor diretamente no *phantom* comparativamente às medidas de ângulo dos avaliadores, para o que os testes demonstraram diferença estatisticamente significativa (Figuras 4.9, 4.10 e 4.11).

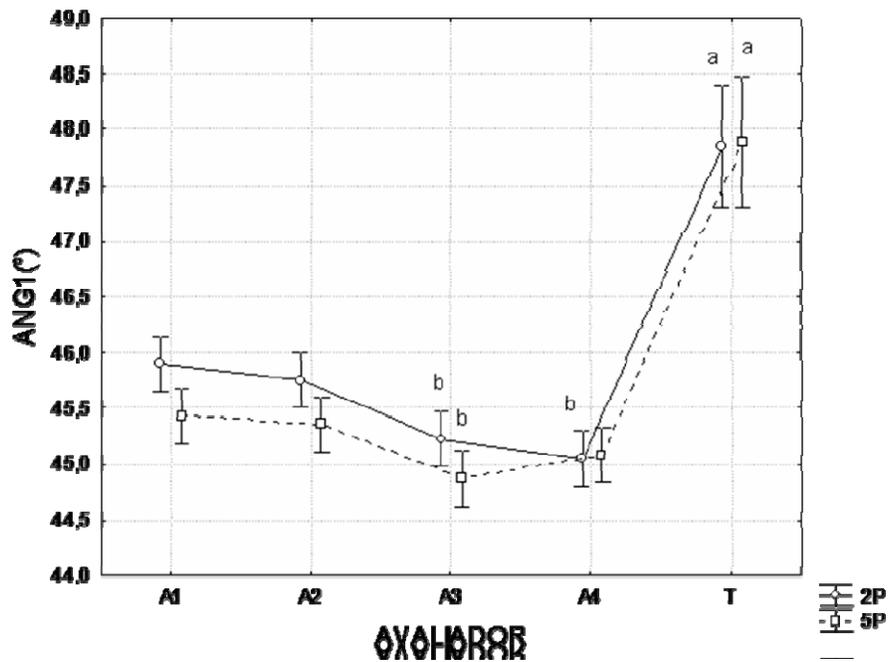


Figura 4.9: Valores médios e intervalos de confiança (95%) de ANG1 de A1, A2, A3, A4 e T para os protocolos 2P e 5P. Diferença estatisticamente significativa no mesmo protocolo para (a) todos; (b) A1. Diferença estatisticamente significativa entre 2P e 5P para A1 e A2.

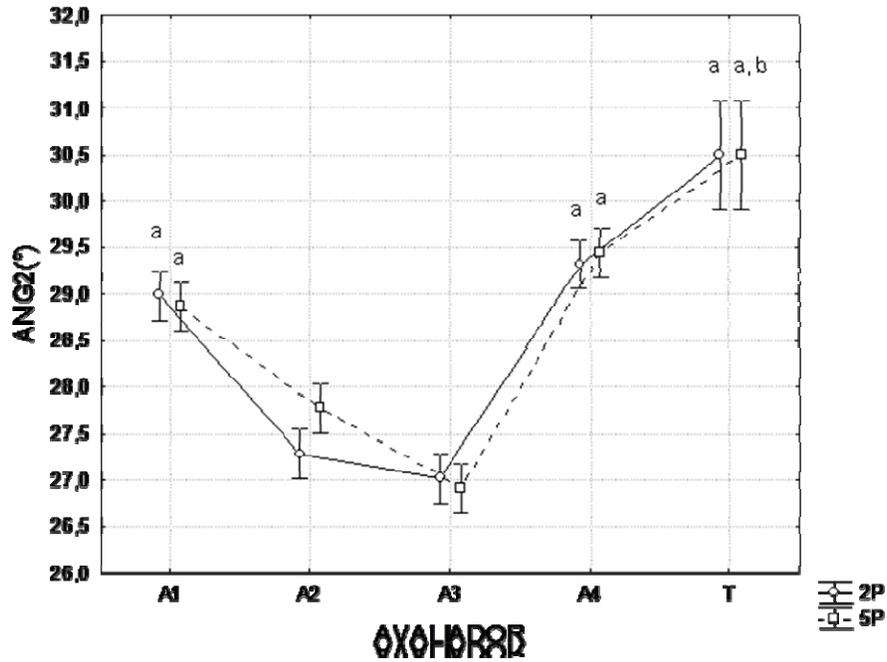


Figura 4.10: Valores médios e intervalos de confiança (95%) de ANG1 de A1, A2, A3, A4 e T para os protocolos 2P e 5P. Diferença estatisticamente significativa no mesmo protocolo para (a) A2 e A3; (b) A1. Diferença estatisticamente significativa entre 2P e 5P para A2.

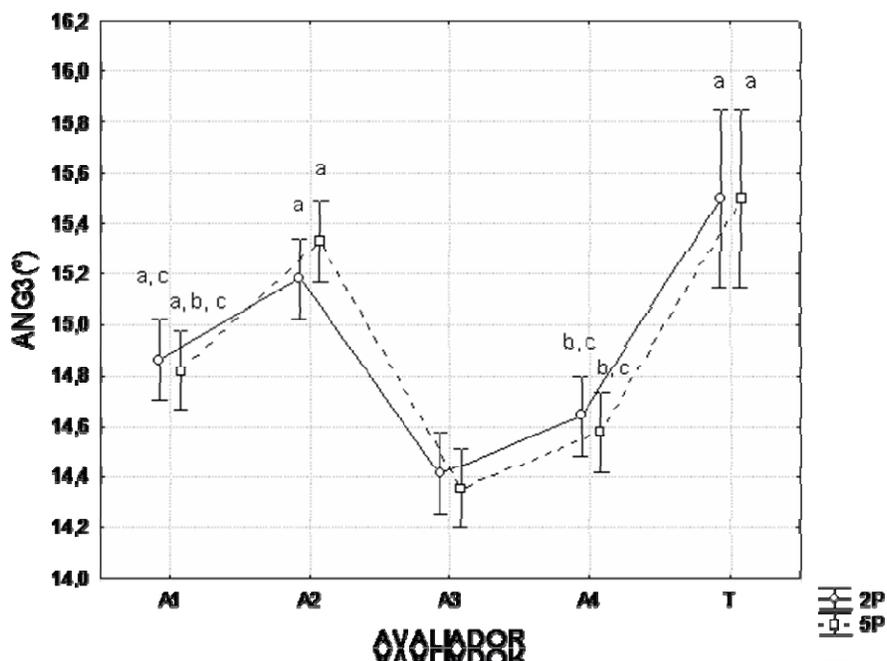


Figura 4.11: Valores médios e intervalos de confiança (95%) de ANG1 de A1, A2, A3, A4 e T para os protocolos 2P e 5P. Diferença estatisticamente significativa no mesmo protocolo para (a) A3; (b) A2; (c) A5.

4.5 DESLOCAMENTOS (DE1, DE2 E DE3)

Os valores de média, desvio-padrão e coeficiente de variação dos três deslocamentos (DE1, DE2 e DE3) quantificados através de dois protocolos (2P e 5P) dos quatro avaliadores (n=200) são apresentados na Tabela 4.9.

Tabela 4.9: Média \pm desvio-padrão (dp) e coeficiente de variação (CV) dos três deslocamentos quantificados através de dois protocolos (DE1_2P, DE2_2P, DE3_2P, DE1_5P, DE2_5P, DE3_5P) medidos com software pelos 4 avaliadores (A1, A2, A3 e A4) (n=50 por avaliador)

	AVALIADOR 1		AVALIADOR 2		AVALIADOR 3		AVALIADOR 4	
	Média \pm dp (cm)	CV(%)						
DE1_2P	1,00 \pm 0,06	6,51	0,98 \pm 0,12	12,35	0,97 \pm 0,13	13,63	1,00 \pm 0,11	10,98
DE2_2P	2,03 \pm 0,06	3,20	2,08 \pm 0,16	7,80	2,04 \pm 0,19	9,28	2,06 \pm 0,14	6,61
DE3_2P	2,84 \pm 0,07	2,31	3,01 \pm 0,18	5,86	2,83 \pm 0,14	4,98	2,94 \pm 0,21	7,15
DE1_5P	1,01 \pm 0,06	6,37	1,00 \pm 0,15	14,98	1,00 \pm 0,12	11,90	1,06 \pm 0,11	10,10
DE2_5P	2,03 \pm 0,05	2,54	2,12 \pm 0,19	8,97	1,96 \pm 0,11	5,60	2,09 \pm 0,09	4,24
DE3_5P	2,83 \pm 0,05	1,76	2,99 \pm 0,16	5,25	2,70 \pm 0,14	5,13	2,95 \pm 0,10	3,27

As Figuras 4.12, 4.13 e 4.14 demonstram a dispersão e comparação dos dados de deslocamento (DE1, DE2 e DE3) entre os quatro avaliadores para os dois protocolos de quantificação – 2P e 5P. Foram detectadas diferenças estatísticas entre os avaliadores para DE1 e DE2 com o protocolo de 5P e para DE3 nos dois protocolos.

Não houve diferença estatística entre os dois protocolos (2P e 5P) para quantificação de DE1, DE2 e DE3 em três dos quatro avaliadores, e os parâmetros apresentaram padrões similares de distribuição entre os dois protocolos para todos os avaliadores (Figuras 4.10, 4.11 e 4.12). Somente um avaliador apresentou diferença estatística entre os protocolos (2P e 5P). É possível notar uma similaridade entre os dados dos avaliadores dos parâmetros DE2 e DE3, com tendência à valores maiores para A2 e A4 quando comparados à A1 e A3 (Figuras 4.13 e 4.14).

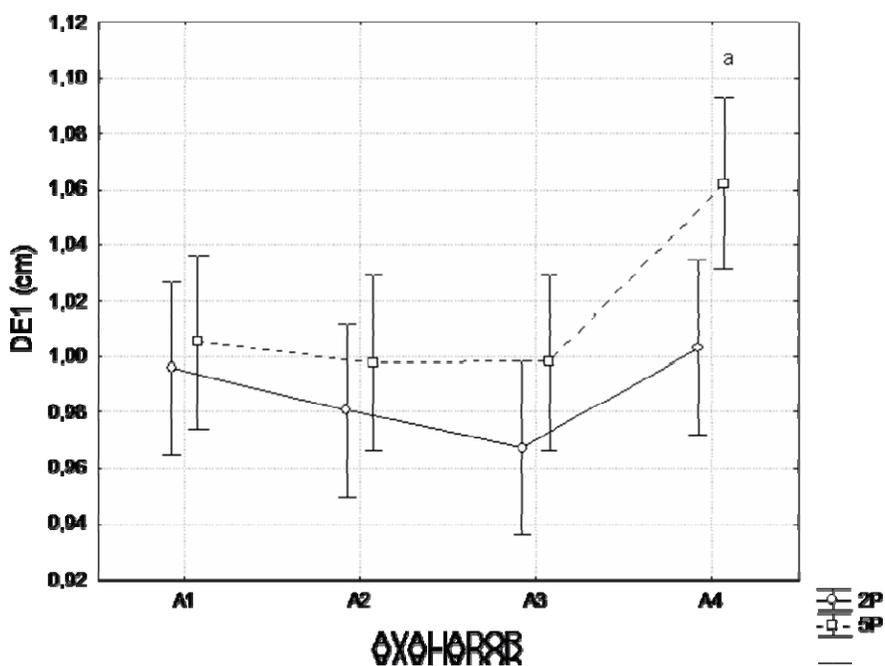


Figura 4.12: Valores médios e intervalos de confiança (95%) de DE1 de A1, A2, A3, A4 para os protocolos 2P e 5P. Diferença estatisticamente significativa no mesmo protocolo para (a) A2. Diferença estatisticamente significativa entre 2P e 5P para A4.

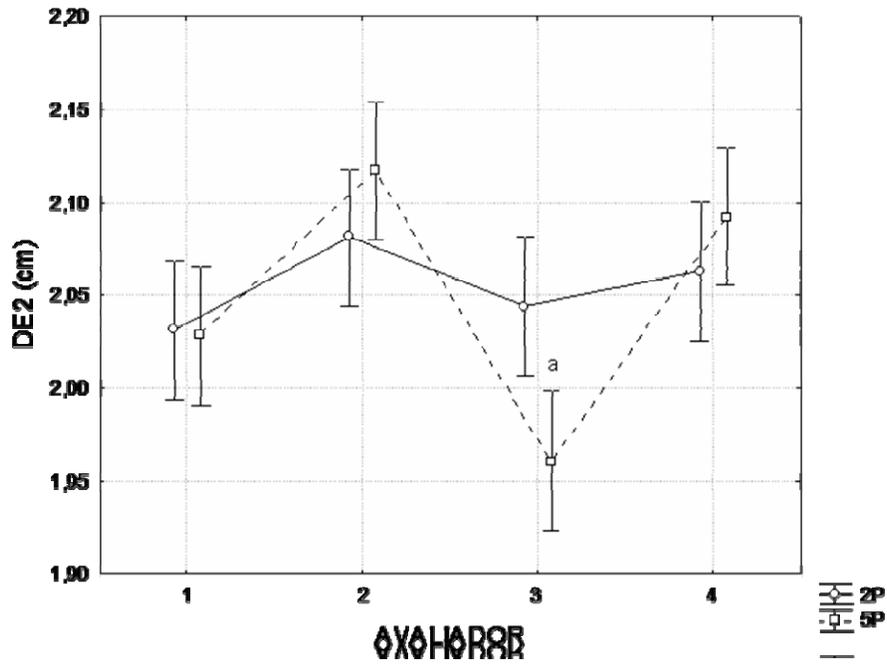


Figura 4.13: Valores médios e intervalos de confiança (95%) de DE2 de A1, A2, A3, A4 para os protocolos 2P e 5P. Diferença estatisticamente significativa no mesmo protocolo para (a) todos; (b) A4. Diferença estatisticamente significativa entre 2P e 5P para A3.

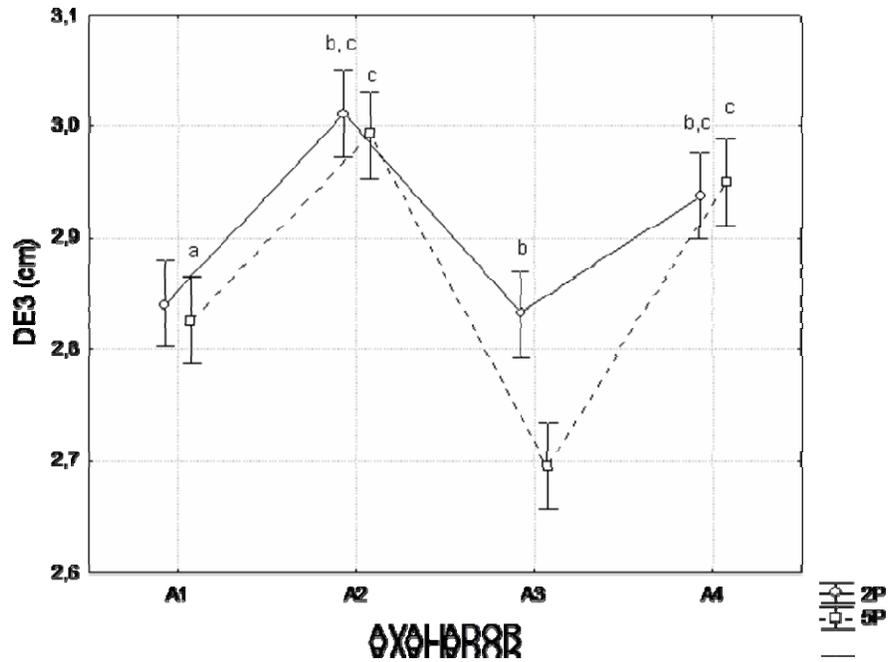


Figura 4.14: Valores médios e intervalos de confiança (95%) de DE2 de A1, A2, A3, A4 para os protocolos 2P e 5P. Diferença estatisticamente significativa no mesmo protocolo para (a) todos; (b) A1; (c) A3. Diferença estatisticamente significativa entre 2P e 5P para A3.

CAPÍTULO 5

DISCUSSÃO

O principal objetivo deste estudo foi desenvolver e validar uma rotina computacional para quantificar parâmetros da arquitetura muscular como o ângulo de penação das fibras musculares, espessura muscular, comprimento do fascículo e deslocamento da junção miotendínea. A validação foi realizada pela comparação das medidas obtidas com o software desenvolvido e aquelas com o paquímetro convencional (DH, DV, CR), paquímetro eletrônico do próprio aparelho de US (DH, DV e CR) e transferidor (ANG). A seguir discute-se os resultados de cada medição.

5.1 DISTÂNCIAS HORIZONTAIS

As diferenças inter-avaliadores encontradas para os parâmetros de distância horizontal indicam um padrão de distribuição dos dados no qual há uma superestimativa por parte dos avaliadores A2 e A4, evidente principalmente para DH2 e DH3. No entanto, a maior diferença percentual entre as médias dos avaliadores foi de 0,02 cm (1,17%) para DH2. Mesmo com valores mais altos, a média dos avaliadores só diferiu da medição com paquímetro convencional para DH2, parâmetro que apresentou valores inferiores para esta técnica. As maiores diferenças entre as médias dos avaliadores e as obtidas com paquímetro convencional para cada parâmetro foram de 0,02 (1,09%), 0,07 (4,29%) e 0,03 cm (0,75%) para DH1, DH2 e DH3, respectivamente, o que confirma os resultados dos testes estatísticos indicando uma alta acurácia de tais medidas (com exceção de DH2). A comparação com as medidas realizadas no aparelho de US não demonstrou diferenças estatisticamente significativas para DH1 e DH3, com diferença para o P e um dos avaliadores em DH2, indicando acurácia também desta técnica e boa confiabilidade.

Os resultados de CV (0,25 a 1,18%) apontam similaridades no que se refere à dispersão das medidas dos avaliadores. O CV máximo dos avaliadores se aproxima daquele encontrado para as medições com paquímetro convencional (0,93%), denotando boa reprodutibilidade do software desenvolvido. O CV para DH3 dos quatro avaliadores foi mais baixo do que os de DH1 e DH2, o que pode ser explicado por valores similares de

desvio-padrão e diferentes médias para todos os parâmetros, refletindo a precisão do método utilizado para quantificação.

As diferenças inter-avaliadores com padrão característico de distribuição dos valores, juntamente com coeficientes de variação reduzidos, sugerem um erro sistemático associado a cada avaliador provavelmente relacionado ao processo de decisão de escolha dos pontos.

5.2 DISTÂNCIAS VERTICAIS

A análise estatística dos parâmetros de distância vertical demonstrou diferenças inter-avaliadores estatisticamente significativas, embora pareça existir um padrão de distribuição dos dados, evidente pelas similaridades entre os dois protocolos para cada avaliador. As maiores diferenças entre as médias dos avaliadores e a obtida com paquímetro para cada parâmetro foram de 0,01 (0,96%), 0,01 (0,48%), 0,01 (0,32%), 0,02 (1,96%), 0,02 (1%) e 0,01 cm (0,33%) para DV1, DV2, DV3, DV4, DV5 e DV6, respectivamente, o que confirma os resultados dos testes estatísticos que não detectaram diferenças significativas e indica uma alta acurácia de tais medidas (com exceção de A1 em DV1). No entanto, a comparação com as medidas realizadas no aparelho de US demonstrou diferenças estatisticamente significativas, com valores superiores destas em relação às medições de alguns avaliadores. As maiores diferenças entre as médias de U e os avaliadores foram: 0,01 (0,95%), 0,03 (1,44%), 0,02 (0,64%), 0,03 (2,88%), 0,03 (1,47%) e 0,02 cm (0,65%) para DV1, DV2, DV3, DV4, DV5 e DV6, respectivamente.

Foram encontradas distâncias menores para as medidas mais profundas para todos os avaliadores, P e U, com diferença estatisticamente significativa para os três pares (DV1 e DV4, DV2 e DV5; DV3 e DV6). O *phantom* foi construído com duas colunas de quatro pinos alinhados verticalmente com a intenção de avaliar o efeito da profundidade nos cálculos de distância. No entanto, não foi possível detectar erros de medição nos parâmetros mais profundos (DV4, DV5 e DV6) em relação aos mais superficiais (DV1, DV2 e DV3), pois a confecção do *phantom* não permitiu esta análise, já que os fios não foram dispostos com a mesma precisão nas duas profundidades. Este fato foi ratificado pelos resultados, nos quais percebe-se claramente um padrão de P e U quando da comparação dos pares.

Erros em medidas de distâncias através de imagens são causados principalmente por dois fatores: digitalização e própria técnica de US. As medições consistem na escolha, pelo usuário, de pixels que representem as regiões de interesse em sua análise, logo a demarcação indevida pode inserir um erro adicional aos outros dois citados anteriormente. A digitalização pode afetar a resolução espacial da imagem, já que a menor medida possível é o tamanho do pixel. Quanto ao método, assumem-se três condições: a velocidade de propagação no meio analisado é 1540 m/s; o pulso ultrassônico percorre uma linha reta; e os ecos recebidos são provenientes de alvos localizados no centro do feixe. Quando alguma destas condições não é verdadeira, o alvo será posicionado na imagem em um local inadequado, provocando erros na medida. No entanto, os erros encontrados em estudos de arquitetura muscular e na análise deste *phantom* são muito maiores do que o tamanho dos pixels. Considerando que: a velocidade no *phantom* é de 1540m/s; o pulso percorreu uma linha reta, já que o meio não apresentava muitos espalhadores; e os alvos estavam no centro da imagem, é possível sugerir que a principal fonte de inacurácia na quantificação das distâncias nas imagens é o avaliador [73]. O software utilizado demonstrou diferenças entre os avaliadores que podem ser justificadas pela escolha diferenciada dos pixels, mas provou-se acurado em comparação à medida do paquímetro convencional, o que evidencia seu potencial para pesquisas que necessitem deste tipo de análise.

Considerando a velocidade de propagação do *phantom* (1516m/s) e as distâncias verticais extremas (DV1 e DV4; DV3 e DV6) medidas com o paquímetro, pode-se obter erros de medição nas imagens de até 0,04 cm, o que representa apenas 1,3% da medida (Tabela 5.1). Este erro seria na suposição do caso mais desfavorável, ou seja, em medições realizadas ao longo do feixe de ultrassom (FISH, 1990).

Tabela 5.1: Valores de distâncias verticais calculados com a velocidade de propagação do *phantom* (1516m/s)

	PAQUÍMETRO (cm)	ULTRASSOM (cm)
DV1	1,04	1,05
DV4	1,02	1,03
DV3	3,07	3,11
DV6	3,03	3,07

Os CVs para as distâncias menores (DV1 e DV4) foram mais baixos do que os demais, o que pode ser explicado por valores similares de desvio-padrão para todos os parâmetros, refletindo a precisão do método utilizado para quantificação.

Apesar do CV das medidas de distâncias verticais realizadas pelos avaliadores terem variado entre 0,36 e 1,18%, enquanto as com o paquímetro convencional variaram entre 0 e 0,41%, esta dispersão não tem significância clínica na quantificação deste parâmetro. Maganaris *et al.* [53] encontraram CV de 1,2% para a espessura muscular do músculo gastrocnêmio, para medidas repetidas na mesma imagem. Já Blazevich *et al.* [19] encontraram CV de 11,65% para a EM do vasto lateral. No presente estudo, considerando os parâmetros que mais se aproximam de medidas de EM (DV3 e DV6), o maior valor de CV foi 0,57%, abaixo do relatado em ambos os trabalhos.

5.3 COMPRIMENTOS

As similaridades dos resultados entre os avaliadores para as medidas de CR1 e CR2 também sugerem, para o comprimento de reta, um padrão de distribuição de dados. As medidas realizadas com paquímetro e no equipamento de US tendem a apresentar valores inferiores aos dos avaliadores. As maiores diferenças entre médias dos avaliadores foram 0,03 (1,00%) e 0,16 cm (3,68%) para CR1 e CR2, respectivamente, enquanto as maiores diferenças entre médias dos avaliadores e P foram 0,14 (4,66%) e 0,18 cm (4,14%). O protocolo de quantificação através do software, que consistia na escolha de dois pontos de interseção entre os fios, demandava, por vezes, a extrapolação visual das retas pelos avaliadores, o que pode justificar os valores mais altos comparativamente aos valores do paquímetro e as diferenças entre os avaliadores. O padrão de distribuição dos dados dos avaliadores indica que o processo de escolha dos pontos se manteve para os dois parâmetros.

Além disso, a comparação com U demonstrou diferenças estatisticamente significativas, com valores inferiores destas em relação às medições de alguns avaliadores, embora com valores similares aos de P. As maiores diferenças entre as médias de U e os avaliadores foram 0,17 (5,66%) e 0,28 cm (6,45%) para CR1 e CR2, respectivamente. Isto pode ser devido ao fato do avaliador responsável pelas medidas no equipamento de US conhecer a estrutura de montagem do *phantom*, permitindo medidas mais acuradas.

Os CVs das medidas dos avaliadores apresentaram valores baixos (0,37 a 0,68%) e próximos àqueles das medidas realizadas com paquímetro convencional (CR1) e no equipamento de US (CR1 e CR2), o que demonstra uma boa precisão do método de quantificação do software, apesar de acurácia reduzida. Ou seja, os avaliadores eram capazes de repetir o mesmo processo de medição embora não tenha sido possível identificar com exatidão os pontos corretos da distância real.

Blazevich *et al.* [19] relataram valores de CV variando de 14 a 17% para o comprimento do fascículo do vasto lateral humano obtido a partir do processamento de imagens de US, enquanto Chleboun *et al.* [39] realizaram medidas de CF em imagens de ultrassom do bíceps femoral de cadáveres, observando coeficiente de variação de 20,45%. Estes valores, encontrados em estudos de análise funcional e aplicada, são muito superiores ao valor máximo de CV encontrado para o CR (0,68%), indicando que a variação das medidas relacionadas ao método proposto não possuem relevância clínica e funcional. Além disso, Maganaris *et al.* [53] testaram a reprodutibilidade de medidas de arquitetura muscular do gastrocnêmio medial, realizadas em imagens de US e encontraram coeficiente de variação de 2,1% para o comprimento da fibra medido repetidas vezes na mesma imagem, enquanto Kawakami *et al.* [6] encontraram CV de até 2% para medidas de CF dos flexores plantares, repetidas três vezes nas mesmas imagens, valores também superiores ao relatado no presente estudo para processo similar de repetição nas mesmas imagens.

5.4 ÂNGULOS

A análise estatística demonstrou diferença significativa entre as medidas realizadas com o transferidor e aquelas realizadas pelos avaliadores através do software. As maiores diferenças encontradas entre as médias dos quatro avaliadores e transferidor foram de 2,79° (5,83%), 3,47° (11,37%) e 1,09° (7,03%) para ANG1, ANG2 e ANG3 medidos com o protocolo 2P e 2,97° (6,2%), 3,58° (11,73%) e 1,14° (7,35%) com o protocolo 5P.

Os gráficos das medidas de ângulo sugerem um erro sistemático associado aos avaliadores na análise dos ângulos com os dois protocolos (2P e 5P), pois as medidas seguem a mesma tendência de distribuição de valores nos dois casos. Apesar da diferença estatística entre as medidas dos avaliadores, é importante ressaltar que as maiores diferenças entre médias nos dois protocolos de quantificação de ANG1, ANG2 e ANG3

foram de $0,84^\circ$ (1,8%), $2,03^\circ$ (6,9%) e $0,75^\circ$ (4,91%), respectivamente, sem relevância clínica.

Opostamente ao esperado, o aumento do número de pontos para determinação do ângulo não provocou o aumento da acurácia da medida quando da comparação com as medidas realizadas diretamente no *phantom*, fatos evidenciados pela comparação estatística entre os dois protocolos para cada avaliador e pelas diferenças entre as médias expostas acima. As diferenças significativas para dois avaliadores (A1 e A2) em ANG1 e para um avaliador (A2) em ANG2 podem se justificar pelas melhores imagens geradas para o parâmetro ANG3, nas quais era possível acompanhar as retas que formam o ângulo de forma distinguível em todo o seu comprimento, facilitando a marcação dos pontos. Cabe ainda ressaltar que a maior diferença das médias entre os dois protocolos foi de $0,45$ (1,02%), $0,49$ (1,80%) e $0,15^\circ$ (0,98%) para ANG1, ANG2 e ANG3, respectivamente.

Como esperado, o pulso ultrassônico, devido ao ângulo de incidência do feixe na reta de ANG1, sofreu um maior desvio, o que piorou a visualização da mesma e dificultou a demarcação dos pontos ao longo de sua extensão. Esta justificativa é ratificada pela diferença do valor medido com o transferidor e o parâmetro ANG1 nas análises de todos os avaliadores.

As medidas dos avaliadores apresentaram coeficientes de variação de até 5,78%, altos quando comparados aos obtidos com o transferidor. No entanto, estes valores foram encontrados nos ângulos menores, ou seja, com médias mais baixas. Como a acurácia, a precisão da medida não foi melhorada com o protocolo de 5P, tornando apenas a análise mais lenta e laboriosa. Apesar de maiores CVs em relação aos parâmetros discutidos anteriormente, o ANG encontra-se na faixa de estudos aplicados de arquitetura muscular.

Maganaris *et al.* [53] testaram a reprodutibilidade de medidas, na mesma imagem, do AP do músculo gastrocnêmio medial em repouso. Os autores encontraram coeficiente de variação de 1,6%. Já Blazevich *et al.* [19] relataram CVs variando entre 15 e 20% para 100 medidas de AP do vasto lateral através de imagens de US. Ito *et al.* [15] reportaram CV de 7% para o AP do músculo tibial anterior. Por fim, Kawakami *et al.* [6] obtiveram coeficientes de até 2% em 3 medidas repetidas deste parâmetro nas mesmas imagens.

5.6 DESLOCAMENTOS

Assim como para as medidas de ângulo, a análise dos gráficos comparativos entre os avaliadores sugere um erro sistemático associado aos avaliadores para análise dos deslocamentos com os dois protocolos (2 e 5 pontos), pois as medidas seguem a mesma tendência de distribuição de valores para cada avaliador em ambos os casos. Apesar da diferença estatística entre as medidas dos avaliadores, é importante ressaltar que as maiores diferenças entre médias de DE1, DE2 e DE3 são de 0,03 (3%), 0,08 (4%) e 0,13 cm (4,8%), respectivamente.

As maiores diferenças encontradas entre as médias dos quatro avaliadores para as distâncias conhecidas de deslocamento do *phantom* (1, 2 e 3 cm) foram de 0,03 (3%), 0,08 (4%) e 0,17 cm (5,6%) para DE1, DE2 e DE3 medidos com o protocolo 2P e 0,06 (6%), 0,12 (6%) e 0,3 cm (10%) para tais parâmetros com o protocolo 5P.

A comparação entre os dois protocolos utilizados para medida dos deslocamentos demonstrou diferenças para somente um dos avaliadores (A3) nos deslocamentos DE2 (4,08%) e DE3 (4,82%). A similaridade dos dados obtidos com os protocolos 2P e 5P indica que não houve melhora da precisão das medidas com o aumento do número de pontos escolhidos nas retas e, portanto, não há justificativa para o aumento do tempo de análise decorrente da metodologia do protocolo 5P. Além disso, a observação comparativa entre as médias dos avaliadores e as distâncias conhecidas demonstra um percentual maior de diferença para o protocolo 5P (3, 4 e 5% para 2P e 6, 6 e 10% para 5P, em DE1, DE2 e DE3 respectivamente), sugerindo um maior distanciamento do valor real para o protocolo com maior número de pontos.

O deslocamento de um centímetro (DE1) apresentou os maiores valores de CV, o que é explicado por valores similares de desvio-padrão para três valores de deslocamento diferentes. Ou seja, a dispersão das medidas (devida à metodologia de quantificação) em valor absoluto é a mesma, independente da amplitude de deslocamento, o que, para deslocamentos menores, corresponde a um valor relativo maior.

Apesar de amplamente aplicada, a quantificação do deslocamento da junção miotendínea ainda encontra dificuldades no processamento das imagens. Uma análise visual destas está sujeita a um grande erro inter-avaliadores, já que, na maioria dos casos, a JMT não pode ser determinada como um único ponto e sim como uma região. Além disso,

a quantificação de deslocamentos implica a análise em duas imagens (quadros pré e pós-deslocamento), o que acarreta erros associados nesta medida. A metodologia utilizada buscou superar dificuldades inerentes a esta quantificação, e embora tenha apresentado um maior CV (1,76 a 14,98%) em relação aos outros parâmetros, é de fácil implementação, pois o usuário não demarca a JMT como em outras metodologias, e sim as aponeuroses que a compõem. Ambas as aponeuroses apresentam alto contraste com as estruturas adjacentes, facilitando a marcação e supostamente diminuindo o erro da medida.

Embora apresente uma metodologia mais interessante do que a simples demarcação da JMT, o método (mesmo com o enriquecimento dos 5 pontos) não obteve os resultados esperados em termos de CV. O desenvolvimento e aplicação de um algoritmo responsável pelo rastreamento da junção, como em alguns estudos, parece obter resultados mais precisos, já que não é dependente do avaliador. Lee *et al.* [23] encontraram coeficientes de 7,84% para deslocamentos de aproximadamente 0,5 mm utilizando este método.

5.6 APLICAÇÃO DOS PARÂMETROS

A plasticidade da arquitetura muscular sob condições diferenciadas de uso tem sido investigada por diversos autores. Por exemplo, a adaptação do AP em resposta ao treinamento de força foi descrita primeiramente por Kawakami *et al.* [36], que compararam o ângulo da porção longa do tríceps braquial entre um grupo controle e fisiculturistas e encontraram valores de 15 e 33°, respectivamente. Outros estudos reportaram dados de atletas de diferentes modalidades e fenótipos com variações de 29 a 50 mm para a espessura muscular e de 11 a 30° para o ângulo de penação do tríceps braquial [74].

Blazevich *et al.* [25] verificaram as adaptações da arquitetura muscular (AP, EM e CF) dos músculos vasto lateral e reto femoral para atletas submetidos a três regimes diferentes de treinamento de força durante cinco semanas. As menores diferenças encontradas entre as médias dos parâmetros medidos antes e após treinamento (com diferença estatisticamente significativa) foram 3,1° (45,58%) para o AP, 3,74 cm (22%) para CF e 0,19 cm (7,9%) para EM. Para o mesmo grupamento muscular, Aagard *et al.* reportaram um aumento relativo de 35,5±8,3% (8.0±0.4 para 10.7±0.6°) do AP do vasto lateral de onze homens submetidos a 14 semanas de treinamento de força de alta intensidade, enquanto Seynnes *et al.* [75] demonstraram aumentos relativos de 7,7±1,3 e

9,9±1,2% do AP e EM do quadríceps femoral, apenas 3 semanas após o início de um programa de treinamento. Kawakami *et al.* [6] relataram aumentos percentuais médios de 29,1±9,4% para AP e 27±14,8% para EM para o músculo tríceps braquial de seis indivíduos submetidos a treinamento de força durante 16 semanas.

As diferenças apresentadas nos estudos que avaliam adaptações após períodos de treinamento superam significativamente os erros inerentes ao método de quantificação com a utilização do software apresentado neste estudo, cujas medidas apresentaram diferenças inter-avaliadores de no máximo 6,9% (EM) e diferenças para as medidas diretas de no máximo 11,73% (AP). Somente o trabalho de Seynnes *et al.* [75] demonstrou adaptações que estariam na faixa de variabilidade das medidas do presente estudo, embora o período de treinamento tenha sido relativamente curto em relação aos outros trabalhos. Ou seja, as adaptações dos parâmetros da arquitetura muscular em tais pesquisas não poderiam ser justificadas por erros de medida, e os associados à rotina computacional desenvolvida não possuiriam relevância clínica neste tipo de análise.

Outro tipo de abordagem comum na literatura é a observação e comparação da arquitetura muscular em diferentes condições de ativação do músculo e em diversas posições articulares. Kawakami *et al.* [6] determinaram as propriedades arquitetônicas do tríceps sural de seis indivíduos em diferentes posições articulares e nas condições passiva (repouso) e ativa (contração isométrica máxima). Os autores observaram variações percentuais de até 84% (3,2±0,4 para 5,9±0,5 cm - repouso) e 50,32% (3,8±6 para 2,5±4 cm - contração) para EM entre posições distintas de tornozelo e joelho. No que se refere ao AP, estas variações foram de 104,54% (22±2 para 45±7° - repouso) e 103,03% (33±5 para 67±6° - contração). As variações entre as condições ativa e passiva em uma mesma posição articular ficaram na faixa de 28,0 a 61,5% para EM e de 50,0 a 69,0% para o AP do gastrocnêmio medial. Também neste tipo de análise os erros inerentes à utilização do software desenvolvido não possuiriam relevância clínica, já que a maior diferença entre as médias e o valor conhecido foi de 11,73% para o AP e de 0,96% para medidas de distância vertical que corresponderiam à EM.

Alguns trabalhos utilizam os parâmetros descritos acima como variáveis de entrada em modelos biomecânicos. Nestes caso, os erros inerentes à medição de cada parâmetro podem gerar erros maiores para as variáveis a serem estimadas.

As medidas de distâncias horizontais no *phantom* foram realizadas de maneira equivalente às de EM *in vivo*, utilizadas em equações preditoras do VM. Para os flexores de cotovelo, Miyatani *et al.* [12] encontraram valores de 3,2 cm para este parâmetro, valor próximo aos de DV3. Considerando as médias e coeficientes de variação deste (3,07 cm e 0,5% respectivamente) do avaliador que obteve dados mais dispersos (A3), pode-se encontrar para a mesma EM valores entre 3,06 e 3,08 cm. Utilizando a equação de predição de VM para esse grupamento (Tabela 2.1), com o valor de comprimento de segmento correspondente (31,9 cm), obter-se-iam volumes de 274,26 e 287,3 cm³. Fukunaga *et al.* [14] encontraram valores de 255±47 e 337±58 cm³ para volumes do mesmo grupamento muscular de um grupo controle e atletas, respectivamente. Os autores não relataram o erro inerente da metodologia empregada, no entanto, se o software desenvolvido no presente estudo fosse utilizado, a diferença encontrada entre os dois grupos (82,11 cm³) seria significativa.

Trabalhos que estimam o BF pelo método de excursão do tendão adaptado, encontram valores em torno de 5 cm para o tríceps sural [70]. De acordo com a equação 2, movimentos articulares de 10° (0,174 rad) implicam um deslocamento da JMT de 0,87 cm. No presente estudo, o parâmetro DE1 se aproxima dos encontrados na estimativa do BF. Considerando o valor e o CV desse parâmetro de A2 (1cm, 14,98% respectivamente), em casos extremos, tem-se valores de deslocamento de 0,86 e 1,14 cm, o que leva a BF de 4,94 e 6,55 cm respectivamente. Esta variação de 32% pode influenciar significativamente na estimativa do BF, principalmente diante da possibilidade de utilização deste dado em modelos de estimativa de torque muscular, já que têm outras variáveis de entrada.

Baseando-se na equação 1, pode-se ter idéia do erro associado de duas variáveis na estimativa da ASTF. Considerando os valores de massa (58,4 g) e densidade muscular (1,056 g/cm³), fornecidos por Ward *et al.* [48], do músculo tibial posterior, as médias e CV de CR2 (A1) (4,34 cm e 0,54% respectivamente) representando o CF deste músculo e de ANG3 (A3) (14,36° e 5,38% respectivamente), como o ângulo de penação (θ), tem-se como extremos da ASTF 12,17 e 12,41 cm².

CAPÍTULO 6

CONCLUSÃO

O presente estudo desenvolveu um software para quantificação de parâmetros da arquitetura muscular em imagens ultrassônicas. A comparação com medidas obtidas diretamente no *phantom* e em imagens no aparelho de US demonstram boa acurácia e precisão do software para todos os parâmetros, indicando seu potencial de utilização.

As diferenças estatísticas encontradas são relativamente baixas, quando os mesmos são utilizados para análise da função humana e individualmente não possuem relevância clínica. Entretanto sua aplicação em estimativas de modelos do músculo esquelético humano, deve ser estudada caso a caso, pois depende da complexidade do modelo.

O deslocamento apresentou maior dispersão do que os outros parâmetros, porém na faixa aceitável para análises de imagens de ultrassom. A utilização do protocolo de 5 pontos não se mostrou mais eficiente, obteve resultados similares aos de 2 pontos e demandou mais tempo de análise. Algoritmos de rastreamento automático de estruturas como a junção miotendínea podem ser uma boa alternativa à rotina desenvolvida.

Foram encontrados na literatura trabalhos com validações de medidas de US com outras técnicas de imagem, porém sem estudo do erro intrínseco metodológico. Diversos estudos de mecânica muscular apresentam erros gerais de suas medidas, não sendo possível atribuí-los a suas determinadas fontes, já a utilização do software permite o conhecimento do erro específico.

Embora os resultados tenham sido satisfatórios, não pode-se desprezar o fato de que imagens *in vivo* não permitem a visualização das estruturas tão claramente quanto as do *phantom*.

Os próximos passos são otimização da rotina (p. ex, rastreamento automático do deslocamento) e aprimoramento de sua interface com o usuário, medições dos parâmetros *in vivo* e comparação de seus erros(CV) com o presente estudo.

Referências Bibliográficas

- [1] M. Miyatani, H. Kanehisa, S. Kuno, T. Nishijima, and T. Fukunaga, "Validity of ultrasonograph muscle thickness measurements for estimating muscle volume of knee extensors in humans," *European Journal of Applied Physiology*, vol. 86, 2002, pp. 203-208.
- [2] R. Marshall, S. Mazur, and N. Taylor, "Three-dimensional surfaces for human muscle kinetics," *European Journal of Applied Physiology*, vol. 61, 1990, pp. 263-270.
- [3] D.C. Martin, M.K. Medri, R.S. Chow, V. Oxorn, R.N. Leekam, a.M. Agur, and N.H. McKee, "Comparing human skeletal muscle architectural parameters of cadavers with in vivo ultrasonographic measurements.," *Journal of anatomy*, vol. 199, 2001, pp. 429-34.
- [4] T. Fukunaga, Y. Kawakami, S. Kuno, K. Funato, and S. Fukashiro, "Muscle architecture and function in humans," *Journal of biomechanics*, vol. 30, 1997, p. 457-463.
- [5] T. Fukunaga, Y. Ichinose, M. Ito, Y. Kawakami, and S. Fukashiro, "Determination of fascicle length and pennation in a contracting human muscle in vivo," *Journal of Applied Physiology*, vol. 82, 1997, p. 354.
- [6] Y. Kawakami, Y. Ichinose, and T. Fukunaga, "Architectural and functional features of human triceps surae muscles during contraction," *Journal of Applied Physiology*, vol. 85, 1998, p. 398.
- [7] J. Bojsen-Møller, P. Hansen, P. Aagaard, U. Svantesson, M. Kjaer, and S.P. Magnusson, "Differential displacement of the human soleus and medial gastrocnemius aponeuroses during isometric plantar flexor contractions in vivo.," *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, vol. 97, 2004, pp. 1908-14.
- [8] B. Hashimoto, D. Kramer, and L. Wiitala, "Applications of musculoskeletal sonography," *Journal of Clinical Ultrasound*, vol. 27, 1999, p. 293-318.

- [9] P. Peetrons, "Ultrasound of muscles.," *European radiology*, vol. 12, 2002, pp. 35-43.
- [10] R.S. Chow, M.K. Medri, D.C. Martin, R.N. Leekam, A.M. Agur, and N.H. McKee, "Sonographic studies of human soleus and gastrocnemius muscle architecture : gender variability," *European Journal of Applied Physiology*, vol. 82, 2000, pp. 236-244.
- [11] C.N. Maganaris, "Force-length characteristics of the in vivo human gastrocnemius muscle.," *Clinical anatomy (New York, N.Y.)*, vol. 16, 2003, pp. 215-23.
- [12] M. Miyatani, H. Kanehisa, M. Ito, Y. Kawakami, and T. Fukunaga, "The accuracy of volume estimates using ultrasound muscle thickness measurements in different muscle groups.," *European journal of applied physiology*, vol. 91, 2004, pp. 264-72.
- [13] T. Muramatsu, T. Muraoka, Y. Kawakami, A. Shibayama, and T. Fukunaga, "In vivo determination of fascicle curvature in contracting human skeletal muscles.," *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, vol. 92, 2002, pp. 129-34.
- [14] T. Fukunaga, M. Miyatani, M. Tachi, M. Kouzaki, Y. Kawakami, and H. Kanehisa, "Muscle volume is a major determinant of joint torque in humans.," *Acta physiologica Scandinavica*, vol. 172, 2001, pp. 249-55.
- [15] M. Ito, Y. Kawakami, Y. Ichinose, S. Fukashiro, and T. Fukunaga, "Nonisometric behavior of fascicles during isometric contractions of a human muscle.," *Journal of applied physiology*, vol. 85, 1998, pp. 1230-5.
- [16] K. Kubo, H. Kanehisa, Y. Kawakami, and T. Fukunaga, "Influence of static stretching on viscoelastic properties of human tendon structures in vivo.," *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, vol. 90, 2001, pp. 520-7.
- [17] C. Maganaris and J. Paul, "In vivo human tendon mechanical properties," *Journal of Physiology*, vol. 521, 1999, p. 307.
- [18] R. Lieber, *Skeletal Muscle Structure, Function, & Plasticity – The Physiological Basis of Rehabilitation*, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002.

- [19] A.J. Blazevich, N.D. Gill, N. Deans, and S. Zhou, "Lack of human muscle architectural adaptation after short-term strength training," *Muscle & nerve*, vol. 35, 2007, pp. 78-86.
- [20] M. Spanjaard, N.D. Reeves, J.H. van Dieën, V. Baltzopoulos, and C.N. Maganaris, "Gastrocnemius muscle fascicle behavior during stair negotiation in humans.," *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, vol. 102, 2007, pp. 1618-23.
- [21] S.P. Magnusson, P. Hansen, P. Aagaard, J. Brønd, P. Dyhre-Poulsen, J. Bojsen-Moller, and M. Kjaer, "Differential strain patterns of the human gastrocnemius aponeurosis and free tendon, in vivo.," *Acta physiologica Scandinavica*, vol. 177, 2003, pp. 185-95.
- [22] I.D. Loram, C.N. Maganaris, and M. Lakie, "Use of ultrasound to make noninvasive in vivo measurement of continuous changes in human muscle contractile length.," *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, vol. 100, 2006, pp. 1311-23.
- [23] S.S. Lee, G.S. Lewis, and S.J. Piazza, "An Algorithm for Automated Analysis of Ultrasound Images to Measure Tendon Excursion in Vivo," *Journal of Applied Biomechanics*, vol. 24, 2008, pp. 75-82.
- [24] A.J. Blazevich and A. Giorgi, "Effect of testosterone administration and weight training on muscle architecture.," *Medicine and science in sports and exercise*, vol. 33, 2001, pp. 1688-93.
- [25] A.J. Blazevich, N.D. Gill, R. Bronks, and R.U. Newton, "Training-specific muscle architecture adaptation after 5-wk training in athletes.," *Medicine and science in sports and exercise*, vol. 35, 2003, pp. 2013-22.
- [26] C.N. Maganaris, "A predictive model of moment-angle characteristics in human skeletal muscle: application and validation in muscles across the ankle joint.," *Journal of theoretical biology*, vol. 230, 2004, pp. 89-98.

- [27] K. Kubo, H. Kanehisa, and T. Fukunaga, "Effects of transient muscle contractions and stretching on the tendon structures in vivo.," *Acta physiologica Scandinavica*, vol. 175, 2002, pp. 157-64.
- [28] K. Kubo, H. Kanehisa, M. Ito, and T. Fukunaga, "Effects of isometric training on the elasticity of human tendon structures in vivo.," *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, vol. 91, 2001, pp. 26-32.
- [29] J.R. Cameron and J.G. Skofronick, *Medical Physics*, Singapore: John Wiley & Sons Ltda., 1978.
- [30] P. Fish, *Physics and instrumentation of diagnostic medical ultrasound*, Chichester: John Wiley & Sons Ltda, 1990.
- [31] S.A. Rubin, *The Principles of Biomedical Instrumentation: A Beginner's Guide*, London: Year Book Medical Publishers Inc., 1987.
- [32] A.D. Bankoff, *Morfologia e cinesiologia aplicada ao movimento humano*, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.
- [33] A. Megliola, F. Eutropi, A. Scorzelli, D. Gambacorta, A. De Marchi, M. De Filippo, C. Faletti, and F.S. Ferrari, "Ultrasound and magnetic resonance imaging in sports-related muscle injuries.," *La Radiologia medica*, vol. 111, 2006, pp. 836-45.
- [34] Y.A. Koryak, "Functional and clinical significance of the architecture of human skeletal muscles," *Human Physiology*, vol. 34, 2008, pp. 482-492.
- [35] Y. Kawakami, T. Abe, S.Y. Kuno, and T. Fukunaga, "Training-induced changes in muscle architecture and specific tension.," *European journal of applied physiology and occupational physiology*, vol. 72, 1995, pp. 37-43.
- [36] Y. Kawakami, T. Abe, and T. Fukunaga, "Muscle fiber pennation angles are greater in hypertrophied than in normal muscles," *Journal of Applied Physiology*, vol. 74, 1993, pp. 2740-2744.

- [37] R. Lieber and S. Bodine-Fowler, "Skeletal muscle mechanics: implications for rehabilitation," *Physical Therapy*, vol. 73, 1993, pp. 844-856.
- [38] Y. Kawakami, K. Amemiya, H. Kanehisa, S. Ikegawa, and T. Fukunaga, "Fatigue responses of human triceps surae muscles during repetitive maximal isometric contractions," *Journal of applied physiology*, vol. 88, 2000, p. 1969.
- [39] G.S. Chleboun, A.R. France, M.T. Crill, H.K. Braddock, and J.N. Howell, "In vivo measurement of fascicle length and pennation angle of the human biceps femoris muscle.," *Cells, tissues, organs*, vol. 169, 2001, pp. 401-9.
- [40] S. Abellaneda, N. Guissard, and J. Duchateau, "The relative lengthening of the myotendinous structures in the medial gastrocnemius during passive stretching differs among individuals.," *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, vol. 106, 2009, pp. 169-77.
- [41] T. Muraoka, T. Muramatsu, T. Fukunaga, and H. Kanehisa, "Elastic properties of human Achilles tendon are correlated to muscle strength.," *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, vol. 99, 2005, pp. 665-9.
- [42] M.V. Narici, T. Binzoni, E. Hiltbrand, J. Fasel, F. Terrier, and P. Cerretelli, "In vivo human gastrocnemius architecture with changing joint angle at rest and during graded isometric contraction.," *The Journal of Physiology*, vol. 496, 1996, p. 287.
- [43] M. Narici, "Human skeletal muscle architecture studied in vivo by non-invasive imaging techniques: functional significance and applications," *Journal of Electromyography and Kinesiology*, vol. 9, 1999, pp. 97-103.
- [44] K. Kubo, H. Kanehisa, K. Azuma, M. Ishizu, M. Okada, and T. Fukunaga, "Muscle Architectural Characteristics in Young and Elderly Men and Women," *International Journal of Sports Medicine*, vol. 24, 2003, pp. 125-130.
- [45] Y. Kawakami, T. Abe, H. Kanehisa, and T. Fukunaga, "Human skeletal muscle size and architecture: variability and interdependence," *American Journal of Human Biology*, vol. 18, 2006, p. 845-848.

- [46] B. Infantolino, "Validation of ultrasound for the estimation of muscle volume in vivo," *Proceedings of American Society of Biomechanics*, vol. I, 2006, pp. 1-2.
- [47] R. Woittiez, P. Huijing, and R. Rozendal, "Influence of muscle architecture on the length-force diagram of mammalian muscle," *Pflugers Archiv European Journal of Physiology*, vol. 399, 1983, p. 275–279.
- [48] S.R. Ward, C.M. Eng, L.H. Smallwood, and R.L. Lieber, "Are current measurements of lower extremity muscle architecture accurate?," *Clinical orthopaedics and related research*, vol. 467, 2009, pp. 1074-82.
- [49] E.R. Kandel, J.H. Schwartz, and T.M. Jessell, *Principles of Neural Science*, New York: McGraw-Hill., Ed., 2000.
- [50] a.M. Gordon, a.F. Huxley, and F.J. Julian, "The variation in isometric tension with sarcomere length in vertebrate muscle fibres.," *The Journal of physiology*, vol. 184, 1966, pp. 170-92.
- [51] R. Lieber and F. Blevins, "Skeletal muscle architecture of the rabbit hindlimb: functional implications of muscle design," *Journal of Morphology*, vol. 199, 1989, pp. 93-101.
- [52] R.M. Enoka, *Bases Neuromecânicas da Cinesiologia*, São Paulo: 2000.
- [53] C. Maganaris, V. Baltzopoulos, and A. Sargeant, "In vivo measurements of the triceps surae complex architecture in man: implications for muscle function," *The Journal of Physiology*, vol. 512, 1998, p. 603.
- [54] H. Martinson and M. Stokes, "Measurement of anterior tibial muscle size using real-time ultrasound imaging," *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, vol. 63, 1991, pp. 25-254.
- [55] M. Miyatani, H. Kanehisa, and T. Fukunaga, "Validity of bioelectrical impedance and ultrasonographic methods for estimating the muscle volume of the upper arm.," *European journal of applied physiology*, vol. 82, 2000, pp. 391-6.

- [56] K. Kubo, H. Kanehisa, and T. Fukunaga, "Effects of cold and hot water immersion on the mechanical properties of human muscle and tendon in vivo," *Clinical Biomechanics*, vol. 20, 2005, pp. 291-300.
- [57] C. Peixinho, D. Alves, R. Lacerda, T. Vieira, and L. Oliveira, "Deformação relativa e frouxidão do tendão calcâneo durante mobilização articular passiva através de ultra-sonografia por imagem," *Revista Brasileira de Fisioterapia*, vol. 12, 2008.
- [58] C.S. Cook and M.J. McDonagh, "Measurement of muscle and tendon stiffness in man," vol. 72, 1996, pp. 380-382.
- [59] C.N. Maganaris and J.P. Paul, "Load-elongation characteristics of in vivo human tendon and aponeurosis.," *The Journal of experimental biology*, vol. 203, 2000, pp. 751-6.
- [60] S. Fukashiro, M. Rob, Y. Ichinose, Y. Kawakami, and T. Fukunaga, "Ultrasonography gives directly but noninvasively elastic characteristic of human tendon in vivo," *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, vol. 71, 1995, pp. 555-557.
- [61] S.P. Magnusson, "Passive properties of human skeletal muscle during stretch maneuvers. A review.," *Scandinavian journal of medicine & science in sports*, vol. 8, 1998, pp. 65-77.
- [62] S. Magnusson, P. Aagaard, S. Rosager, P. Dyhre-Poulsen, and M. Kjaer, "Load-displacement properties of the human triceps surae aponeurosis in vivo," *Journal of Physiology*, vol. 531, 2001, p. 277.
- [63] T. Muramatsu, T. Muraoka, D. Takeshita, Y. Kawakami, Y. Hirano, and T. Fukunaga, "Mechanical properties of tendon and aponeurosis of human gastrocnemius muscle in vivo.," *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, vol. 90, 2001, pp. 1671-8.

- [64] C.N. Maganaris, "Validity of procedures involved in ultrasound-based measurement of human plantarflexor tendon elongation on contraction.," *Journal of biomechanics*, vol. 38, 2005, pp. 9-13.
- [65] T. Fukunaga, K. Kubo, Y. Kawakami, S. Fukashiro, H. Kanehisa, and C.N. Maganaris, "In vivo behaviour of human muscle tendon during walking.," *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society*, vol. 268, 2001, pp. 229-33.
- [66] L.L. Menegaldo, A.T. Fleury, and H.I. Weber, "Moment arms and musculotendon lengths estimation for a three-dimensional lower-limb model," *Journal of Biomechanics*, vol. 37, 2004, pp. 1447-1453.
- [67] L.L. Menegaldo and L.F. de Oliveira, "Effect of muscle model parameter scaling for isometric plantar flexion torque prediction.," *Journal of biomechanics*, vol. 42, 2009, pp. 2597-601.
- [68] M. Ito, H. Akima, and T. Fukunaga, "In vivo moment arm determination using B-mode ultrasonography," *Journal of Biomechanics*, vol. 33, 2000, p. 215–218.
- [69] K. An, Y. Ueba, E. Chao, W. Cooney, and R. Linscheid, "Tendon excursion and moment arm of index finger muscles," *Journal of Biomechanics*, vol. 16, 1983, pp. 419-425.
- [70] C.N. Maganaris, V. Baltzopoulos, and a.J. Sargeant, "In vivo measurement-based estimations of the human Achilles tendon moment arm.," *European journal of applied physiology*, vol. 83, 2000, pp. 363-9.
- [71] R.L. Basto, "Construção de um phantom sintético com propriedades termofísicas e ultra-sônicas similares às do tecido biológico humano em 1,0 e 2,8 MHz," 2007.
- [72] P.N. Wells, "Ultrasonics in medicine and biology," *Physics in medicine and biology*, vol. 22, 1977, pp. 629-669.
- [73] A. Goldstein, "Errors in ultrasound image distance measurements," *Ultrasound in Medicine and Biology*, vol. 26, 2000, pp. 1125-1132.

- [74] Y. Ichinose, H. Kanehisa, and M. Ito, "Relationship between muscle fiber pennation and force generation capability in olympic athletes," *International journal of sports and medicine*, vol. 19, 1998, pp. 541-546.
- [75] O.R. Seynnes, M. de Boer, and M.V. Narici, "Early skeletal muscle hypertrophy and architectural changes in response to high-intensity resistance training.," *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, vol. 102, 2007, pp. 368-73.