## UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO ESCOLA POLITÉCNICA DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA MECÂNICA

## ESTUDO E TESTES PRELIMINARES PARA UM MÉTODO ÓPTICO DE CONTROLE DE PRÓTESES VALVULARES

Rene Nogueira Ting

Orientador:

Prof. Dr. Raul Gonzalez Lima

Co-Orientador:

Flavius Portella Ribas Martins

## UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO ESCOLA POLITÉCNICA DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA MECÂNICA

# ESTUDO E TESTES PRELIMINARES PARA UM MÉTODO ÓPTICO DE CONTROLE DE PRÓTESES VALVULARES

Trabalho de formatura apresentado à Escola Politécnica da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Graduação em Engenharia

Rene Nogueira Ting

Orientador:

Prof. Dr. Raul Gonzalez Lima

Co-Orientador:

Flavius Portella Ribas Martins

Área de Concentração: Engenharia Bio-Mecânica

São Paulo 2008

## FICHA CATALOGRÁFICA

## Ting, Rene Nogueira

Estudo e testes preliminares para um método óptico de controle de próteses valvulares, por R. N. Ting. São Paulo: EPUSP, 2008. 36p. + anexos.

Trabalho de Formatura – Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. Departamento de Engenharia Mecânica.

1. Válvulas artificiais cardíacas. 2. Análise digital de imagens. 3. Biomecânica. 4. Pericárdio. I. Universidade de São Paulo. Escola Politécnica. Departamento de Engenharia Mecânica.

#### **RESUMO**

O presente trabalho propõe um método diferenciado para visualização de possíveis problemas nos pericárdios bovinos analisados com a finalidade da produção de válvulas artificiais cardíacas a serem utilizadas em seres humanos. Para tanto, utilizou-se um método óptico com análise digital de imagens buscando uma maior definição e precisão dos resultados. O texto envolve uma pesquisa bibliográfica e conversas com profissionais da área visando o estudo de viabilidade e testes simulando um dispositivo automatizado de uma confiabilidade maior do que aquela obtida até então. O trabalho possui caráter classificatório e a idéia do dispositivo pode servir como base para muitas pesquisas e avanços tanto na área de próteses cardíacas como em outras correlacionadas à análise de imagens.

## **ABSTRACT**

This report proposes a different method for viewing of possible problems with bovine pericardium used for the production of artificial heart valves for use in humans. The method is based on image analysis with digitalized optical images seeking greater definition and accuracy of results. This study includes a literature search and conversations with professionals in the area seeking the viability study and tests simulating an automated device with a greater reliability than that achieved by today's practices. This work feature is classificatory and the idea of the device can serve as the basis for many research and advances in the cardiac prosthesis area and in image analysis correlated areas.

## **SUMÁRIO**

## LISTA DE FIGURAS

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Panorama Atual	1
1.2. O Problema	1
1.3. Objetivos do Trabalho	2
2. REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1. O Funcionamento Cardíaco	3
2.2. Válvulas Artificiais	4
2.3. Pericárdio Bovino	6
2.4. Obtenção de Imagens Digitais	7
2.5. Obtenção de Imagens de Pericárdios	9
2.6. Processamento Digital de Imagens	9
3. DESCRIÇÃO DAS ETAPAS DESENVOLVIDAS	12
4. MATERIAIS E MÉTODOS	13
4.1. Testes em um Protótipo Simples	13
4.1.1. Estudo de Viabilidade Física	13
4.1.2. A Construção do Protótipo	14
4.1.3. Detalhamento da Solução	15
4.1.4. Método de Ensaio	16
4.2. Testes em Laboratório	18
4.2.1. Obtenção de Imagens com Laser	18
4.2.2. Obtenção de Imagens com Microscópio	19
4.2.3. Processamento da Imagem	20

5. RESULTADOS OBTIDOS	21
5.1. Resultados Preliminares	21
5.2. Resultados Finais	25
6. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS E CONCLUSÕES	31
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
ANEXOS	

#### LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1: Corte mostrando quatro válvulas cardíacas	3
Figura 2.2: Válvula mecânica de disco basculante.	5
Figura 2.3: Válvula biológica de pericárdio bovino	5
Figura 2.4: Pericárdio Bovino in natura.	6
Figura 4.1: Base da Matriz de LEDs.	. 14
Figura 4.2: Chaves para ligar cada cor independentemente	. 14
Figura 4.3: Dispositivo com lente difusora acoplada à matriz de LEDs	. 15
Figura 4.4: Esboço com as dimensões do projeto do protótipo.	. 16
Figura 4.5: Pedaço de papel vegetal com uma dobra no lado esquerdo e um furo	
no lado direito	. 17
Figura 4.6: Esboço do arranjo experimental do teste a laser	. 18
Figura 5.1: Teste realizado com a luz azul, verde e vermelha separadamente,	
incidindo sobre apenas 1 jateado	. 21
Figura 5.2: Teste realizado com 2 jateados, sendo um a 40mm da câmera e o	
outro a 300mm.	. 21
Figura 5.3: Teste realizado com 2 jateados, sendo um a 40mm da câmera e o	
outro a 80mm.	. 22
Figura 5.4: Protótipo de testes fabricado	. 22
Figura 5.5: Imagem obtida do papel vegetal de teste sob a luz branca	. 23
Figura 5.6: Imagem obtida do papel vegetal de teste sob a luz azul	. 23
Figura 5.7: Imagem obtida do papel vegetal de teste sob a luz verde	. 24
Figura 5.9: Ensaio realizado com o pericárdio no estereoscópio.	. 25
Figura 5.10: Imagem com luz incidindo do canto esquerdo superior	. 26
Figura 5.11: Mesmo local da imagem anterior, agora com luz incidindo no canto	
direito superior.	. 26
Figura 5.12: Lado rugoso da película de pericárdio	. 27
Figura 5.13: Lado liso do material da St. Jude	. 27

Figura 5.14: Gráfico resultante do módulo da FFT aplicada em uma linha	. 28
Figura 5.15: Gráfico resultante do módulo da FFT aplicada em uma coluna	. 28
Figura 5.16: Resultado obtido da imagem do pericárdio fornecido pelo Incor	. 29
Figura 5.17: Resultado obtido da imagem do material fornecido pela St. Jude	30
Figura 5.18: Resultado obtido da imagem do lado liso do pericárdio fornecido	
pela St. Jude	30

## 1. INTRODUÇÃO

#### 1.1. Panorama Atual

Para muitas doenças envolvendo as válvulas cardíacas, quando não há possibilidade de recuperação, a alternativa que resta é a sua substituição por uma válvula artificial. Os dois tipos mais utilizados são as válvulas mecânicas e as biológicas. A principal diferença entre as duas reside no fato de a segunda ser composta por um material biológico (constituído em grande parte por tecido bovino ou suíno) enquanto que a primeira é feita de outros materiais, como aço inoxidável ou compósitos de carbono.

O principal problema na utilização das válvulas mecânicas é sua alta taxa de rejeição. Devido ao tipo de material utilizado o organismo tende a formar coágulos nas superfícies da válvula, exigindo assim que o paciente tome anticoagulantes. Em contrapartida a dosagem em demasia deste medicamento pode provocar hemorragias.

Um dos tecidos mais utilizados para a fabricação da válvula artificial biológica é o pericárdio bovino, que consiste em uma membrana que recobre o coração do animal. Apesar deste material possuir uma menor taxa de rejeição comparado aos materiais não-biológicos, tende a degenerar num período próximo de 5 anos a partir de sua colocação, fazendo com que haja sucessivas intervenções cirúrgicas.

#### 1.2. O Problema

O pericárdio bovino é um material amplamente utilizado na medicina brasileira para substituição de válvulas cardíacas com mau funcionamento. Apesar de ter uma baixa taxa de rejeição, a durabilidade é um dos fatores de maior problema. Isso acontece em grande parte devido à dificuldade que se tem de verificar a qualidade do material antes de sua colocação. Um dos defeitos que diminui a vida útil do material é o direcionamento das fibras de colágeno, que para um melhor aproveitamento devem estar bem alinhadas em todo retalho. Atualmente a verificação é feita olho nu, ficando assim subjetiva e sem precisão, não existindo qualquer método para ensaio que possa verificar com exatidão em toda extensão.

Portanto, o problema a ser abordado é definido na falta de um método não destrutivo para o controle de qualidade do pericárdio bovino, assim como a falta de um dispositivo que faça isto de maneira automatizada e com maior confiabilidade para o uso cirúrgico na manufatura de válvulas artificiais cardíacas.

#### 1.3. Objetivos do Trabalho

Tendo sido o problema anteriormente definido, esse trabalho tem caráter exploratório e consiste no desenvolvimento de um método óptico não destrutivo para a análise da qualidade do pericárdio bovino, incluindo testes preliminares para visualização de tal tarefa visando uma prática automatizada e mais confiável.

A princípio será realizado um estudo bibliográfico e entrevistas com profissionais da área procurando assim obter uma visão mais detalhada do assunto. A partir disto será feito um estudo de uma solução óptica capaz de solucionar o problema. Posteriormente será desenvolvido o método de acordo com a solução escolhida juntamente com testes em laboratório para a realização desta tarefa. Por fim, em cima dos respectivos resultados obtidos serão retiradas as devidas conclusões sobre o método.

#### 2. REVISÃO DA LITERATURA

#### 2.1. O Funcionamento Cardíaco

O coração é um dos principais órgãos do corpo, sendo sua principal função o bombeamento sangüíneo, pois ele envia sangue oxigenado dos pulmões para o resto do corpo e também o sangue que retorna dos tecidos para o pulmão. É constituído em grande parte de músculo anatomicamente estriado e fisiologicamente liso e possui dois sistemas de bombeamento independentes, um do lado direito e o outro do lado esquerdo. Cada um dos sistemas possui duas câmaras, sendo um átrio (ou aurícula) e um ventrículo. O coração também tem quatro válvulas, localizadas nas saídas de cada câmara, que permitem que o sangue passe no sentido correto e impedem o refluxo.

Dentre as quatro válvulas do coração, as que se situam entre os átrios e os ventrículos são maiores do que aquelas nas saídas do órgão. A válvula tricúspide localiza-se entre o átrio e o ventrículo direito e a válvula mitral entre o átrio e ventrículo esquerdo. Nas saídas tem-se a válvula pulmonar no ventrículo direito e a válvula aórtica no ventrículo esquerdo.

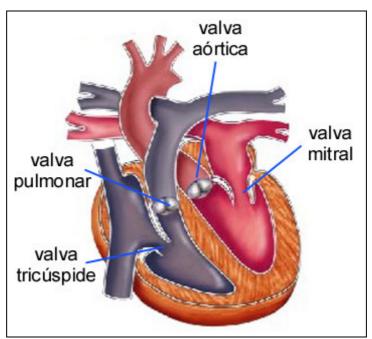


Figura 2.1: Corte mostrando quatro válvulas cardíacas.

O sangue venoso chega pobre em oxigênio e rico em gás carbônico das veias cava superior e inferior, no átrio direito do coração. A cavidade se enche à medida que seus músculos são relaxados até o momento em que a válvula tricúspide libera o sangue para o ventrículo direito. Logo depois o ventrículo força a passagem deste sangue através da válvula pulmonar para a artéria pulmonar, levando o sangue para ser oxigenado nos pulmões.

Depois de retornar dos pulmões, o sangue agora oxigenado entra pelo átrio esquerdo até o momento em que a válvula mitral permite a passagem para o ventrículo esquerdo. De lá o sangue é bombeado através da válvula aórtica para o resto do corpo.

O mau funcionamento de qualquer uma das válvulas do coração pode fazer com que haja um refluxo do sangue ou dificuldade de passagem no sentido correto, dependendo da lesão ou doença presente. Em casos onde não é possível um tratamento clínico através de medicamentos, a alternativa que resta é a substituição da válvula por uma artificial.

#### 2.2. Válvulas Artificiais

As válvulas são estruturas responsáveis pelo bombeamento correto nas cavidades do coração. Seu mau funcionamento muitas vezes exige a troca ou por uma válvula artificial, que podem ser mecânicas ou biológicas, ou ainda de um doador.

As válvulas artificiais mecânicas podem ser feitas de materiais sintéticos ou metálicos, sendo atualmente utilizadas em grande maioria aquelas compostas de carbono pirolítico. As próteses podem ter diferentes tipos de funcionamento e dentre as mais usuais estão: bola e gaiola, disco basculante e disco com duas cúspides. O modelo mecânico possui uma maior facilidade de fabricação quando comparado ao biológico, mas apesar disto o custo costuma ser muito mais alto, dependendo dos materiais que são utilizados. E para ter a mesma taxa de rejeição o paciente que utiliza as válvulas mecânicas precisa freqüentemente tomar medicamentos anticoagulantes. Estes, se em excesso, podem causar hemorragias.



Figura 2.2: Válvula mecânica de disco basculante.

Já no caso das válvulas artificiais biológicas, um dos materiais mais utilizados nesta técnica é o pericárdio bovino, e o modelo tenta reproduzir o funcionamento da válvula a ser substituída. O custo e a taxa de rejeição costumam ser bem menores comparadas às mecânicas e por este motivo largamente utilizadas no Brasil (em torno de 80% do total das próteses valvulares). O maior problema é devido à duração desta válvula, pois tem um processo de degeneração mais acentuado e, dependendo do tratamento a que foi submetido anteriormente o material, pode também sofrer calcificações.



Figura 2.3: Válvula biológica de pericárdio bovino.

Também existe a possibilidade de um transplante de válvula, proveniente de doador humano. A problemática neste caso já é bem conhecida, pois o número de doações não corresponde ao número de pessoas que precisam de um transplante. Além disso, o órgão retirado do doador não pode receber determinados tipos de tratamento antes de ser recolocado, o que pode aumentar a rejeição.

#### 2.3. Pericárdio Bovino

Dentre os materiais utilizados para construção das válvulas artificiais cardíacas, um dos mais frequentes é o pericárdio bovino, que é um tecido fibroso rico em fibras colágenas que envolve o coração.



Figura 2.4: Pericárdio Bovino in natura.

No Brasil, o pericárdio bovino é obtido em frigoríficos, imediatamente após o abate dos animais, com idade de 30 a 60 meses tendo sido todos previamente fiscalizados pelo Serviço de Inspeção Federal. Procura-se retirar um tecido rico em colágeno e livre de gorduras. O material então é transportado para o laboratório em uma solução de limpeza a 4°C por no máximo 4 horas.

No laboratório, o pericárdio é novamente lavado em solução de limpeza e montado em um suporte para ser submetido a curtimento em uma solução de glutaraldeído a 0,5%. Todo este procedimento visa curtir o tecido, mas mantendo o alinhamento ou paralelismo dos feixes de colágeno e sem sofrer estiramento ou alteração de sua ondulação natural, para assim obter a elasticidade necessária para o bom funcionamento da válvula (Braile, 1990).

Depois de curtido, o material é submetido a um tratamento com uma solução oxidante, que retira substâncias antigênicas, impurezas, restos celulares, além de aumentar a resistência do tecido. Por fim, é colocado em uma solução conservadora

de formaldeído a 4%. Depois dessa fase são submetidos a um controle de qualidade onde se descartam aqueles que não se encaixam dentro dos critérios desejados.

O processo no qual são escolhidos os pedaços do pericárdio a serem recortados é visual e por isso subjetivo. A seleção procura obter os pedaços mais homogêneos e com espessuras medidas entre 0,25mm e 0,35mm.

Os processos de controle de qualidade envolvem análise microscópica, testes de tensão superficial crítica, controle bacteriológico, teste de encolhimento, teste de resistência mecânica e durabilidade acelerada. Todos os métodos para controle da qualidade no aspecto mecânico são destrutivos e para tanto são realizados em retalhos adjacentes àqueles que virão a constituir a válvula. Após todos os procedimentos serem aplicados, desde a coleta até a liberação para confecção das válvulas o índice de material rejeitado atinge cerca de 90% (Braile, 1990).

#### 2.4. Obtenção de Imagens Digitais

O processo de obtenção de imagem óptica digital é gerado pelo princípio envolvendo uma fonte de luz (energia) que pode ser refletida e absorvida pelos elementos da cena e um sensor que irá captar essa quantidade de iluminação. É importante que a energia lançada pela fonte possa ser captada pelo sensor, não necessariamente por completo, mas de forma que carregue informações do meio pelo qual passou.

As maneiras mais simples de se obter uma imagem bidimensional são três: usando ou um sensor simples, ou sensores em tiras ou uma distribuição de sensores. As diferentes maneiras obtêm diferentes tipos de resultado, também mudando o tempo de aquisição.

Para a obtenção usando um sensor simples é preciso fazer uma varredura com o sensor por toda a superfície a ser registrada. Para isso são definidos dois eixos principais no material e o sensor percorre por toda a área em determinadas coordenadas. A limitação deste processo é que a saída estará limitada a apenas um tipo de sinal, verificando apenas a sua intensidade.

Utilizando uma tira de sensores é possível realizar a varredura percorrendo apenas uma direção. Isso diminui consideravelmente o tempo de exposição e sua utilização é muito mais frequente do que um sensor sozinho. Elementos cilíndricos

podem ter sua superfície registrada com a utilização de anéis de sensores e o movimento linear entre um e outro.

A maneira mais comum hoje de se obter uma imagem digital é por meio de uma câmera fotográfica que utiliza uma distribuição de sensores. Isso permite utilizar diversos tipos de sensores, podendo diferenciar cores distintas e captar bem diferentes intensidades de luz. Um dos tipos de sensores mais comum em câmeras são aqueles chamados de distribuição CCD que pode ser formada de uma distribuição de 4000x4000 elementos. A resposta de cada sensor é proporcional à energia de luz projetada na superfície deste sensor obtendo assim um menor nível de ruído. Outra vantagem desta maneira de aquisição é de que a movimentação não é necessária para varrer uma área.

Independentemente da maneira utilizada, a resposta que se obtém da imagem é uma matriz de números reais. Os elementos desta matriz são chamados de pixel e podem representar uma escala de cinza ou cores, dependendo do caso. Juntos, eles formam a imagem a ser analisada e uma maior quantidade melhora a definição da imagem quando se mantém o mesmo tamanho físico.

Para se analisar digitalmente uma imagem deve-se trabalhar em cima dos elementos da matriz matematicamente. Com uma boa definição e um algoritmo eficaz é possível obter resultados bem satisfatórios em pequenos detalhes.

O armazenamento das imagens no computador possui uma variedade grande de padrões e cada formato exige uma maneira específica de se trabalhar, pois há mudanças na forma como trabalham. Basicamente existem hoje dois formatos principais: os formatos escalares (*raster*) e os formatos matriciais. Os formatos escalares são aqueles normalmente fornecidos por algum sensor e formam uma matriz de pixels. Já o formato vetorial é formado por diferentes elementos geométricos formando a imagem e é utilizado em softwares de desenho mais complexos.

Um dos formatos mais comuns de imagem é o PCX/PCC suportado pelos programas mais comuns de edição de imagens. O código é um dos mais simples, portanto mais fácil de se trabalhar matematicamente.

#### 2.5. Obtenção de Imagens de Pericárdios

Quando se aborda a análise de tecidos biológicos há de se considerar a utilização de instrumentos e métodos ópticos para conseguir realizá-la. Mas ao observar o material com um microscópio de fluorescência percebe-se que a visualização é bastante complexa devido às fibras de elastina e colágeno se encontrarem bastante entrelaçadas. Desta forma, torna-se um desafio tentar aplicar os métodos estereológicos normalmente usados em análise de imagens médicas e biológicas (Vito,1979).

Para resolver esta dificuldade, técnicas que se baseiam na análise de imagens de padrões de interferência estão sendo utilizadas buscando encontrar propriedades geométricas significativas em tecidos biológicos. O objetivo seria estimar a inclinação média local das fibras. Esta estimativa poderia ser realizada tanto passando um feixe de laser através do pericárdio para obter as figuras de interferência, quanto analisando a textura de *speckle* através de imagens de ultra-som (Lai et al, 2007).

O tipo de laser mais adequado até o momento é o de HeNe, pois possui um comprimento de onda de aproximadamente =632,8nm. Esta medida é importante pois corresponde à magnitude do diâmetro das fibras de colágeno e elastina, para assim ser possível verificar uma indicação da direção das fibras pela difração do laser. (Sacks et al, 1997)

#### 2.6. Processamento Digital de Imagens

Muitos problemas computacionais significativos são trabalhados utilizando o método da transformada de Fourier, o que acontece muito quando se está envolvido com um domínio de tempo ou de freqüências, pois se apresenta como uma importante ferramenta computacional para a visualização de certas manipulações de dados. Quando se trata de uma imagem digital a análise muda para uma transformada de Fourier bidimensional no espaço, pois se deve analisar toda sua área.

A Transformada de Fourier no espaço opera com processos físicos que se repetem em alguma das três dimensões. Estes podem ser descritos no domínio do espaço como uma quantidade h em função de x. Ou então no domínio das freqüências onde o processo é dado por uma amplitude H em função de uma freqüência f. Assim, a transformada de Fourier no espaço contínuo é dada por:

$$H(f) = \int_{-\infty}^{\infty} h(x) \cdot e^{2\pi i f x} dx \qquad (2.5.1)$$

$$h(x) = \int_{-\infty}^{\infty} H(f) \cdot e^{-2\pi i f x} df \qquad (2.5.2)$$

Um método eficiente de se calcular grandes operações baseadas em convoluções pode ser realizada através do Teorema da Convolução, decorrente da transformada de Fourier. Ele transforma uma complicada operação de convolução em simples multiplicações. Pegando por exemplo duas funções h(x) e g(x) correspondentes às transformadas de H(f) e G(f). Assim, a convolução das duas funções é dada por:

$$g * h \equiv \int_{-\infty}^{\infty} g(\omega) \cdot h(x - \omega) \cdot e^{2\pi i f x} d\omega$$
 (2.5.3)

E o Teorema da Convolução garante que:

$$g*h \equiv G(f) \cdot H(f) \tag{2.5.4}$$

Determina-se também o conceito de *energia total* em um sinal como sendo a energia computada no domínio do espaço ou no domínio da freqüência. O resultado é conhecido como teorema de Parseval que é dado por:

Energia Total 
$$\equiv \int_{-\infty}^{\infty} |h(x)|^2 dx = \int_{-\infty}^{\infty} |H(f)|^2 df$$
 (2.5.5)

A grande maioria das aplicações da transformada ocorre para em ambientes computacionais, e assim, para cálculos numéricos é preciso trabalhar com variáveis discretas. Desse modo, pode-se alterar as equações (2.5.1) e (2.5.2) utilizando somatórias. Chama-se transformada de Fourier discreta de N pontos hk:

$$H_{n} = \sum_{k=0}^{N-1} h_{k} \cdot e^{2\pi i k n/N}$$
 (2.5.6)

$$h_{k} = \frac{1}{N} \sum_{k=0}^{N-1} H_{n} \cdot e^{-2\pi i k n / N}$$
 (2.5.7)

E da mesma forma podemos aplicar a transformada discreta para o teorema da convolução e para o teorema de Parseval.

Para melhorar o número de contas e conseqüentemente a velocidade de cálculo, a transformada de Fourier pode ser calculada utilizando algoritmos otimizados chamados de *Fast Fourier Transform (FFT)*. Enquanto que no cálculo simples tem-se  $O(N^2)$  processos, a FFT apresenta  $O(N\log_2 N)$ . Isso possibilitou a utilização da transformada no cálculo de grandes matrizes.

## 3. DESCRIÇÃO DAS ETAPAS DESENVOLVIDAS

As etapas desenvolvidas durante toda a realização desse trabalho são:

- Pesquisa bibliográfica: levantamento bibliográfico com análise na literatura já publicada na área, e do assunto a ser abordado para criar uma visão mais detalhada do problema.
- Entrevistas com profissionais da área: levantamento de dados a partir de entrevistas com profissionais que trabalham diariamente com o assunto. Conhecer como é feito todo o processo de fabricação da válvula na atualidade levantar os principais problemas e necessidades.
- Estudo de viabilidade física: estudo aprofundado das soluções mais viáveis considerando vários aspectos importantes como os construtivos, operacionais e funcionais.
- Detalhamento da solução: desenvolvimento da solução escolhida visando a construção de um protótipo para possíveis testes e definições de alguns parâmetros importantes.
- <u>Fabricação de um protótipo</u>: produção de um dispositivo de testes com a finalidade analisar a solução escolhida. Não foi obtido a partir do protótipo um resultado quantitativo, mas sim qualitativo.
- <u>Testes</u>: realização de testes afim de verificar a funcionalidade da solução.
   Testes em laboratório também deverão ser realizados a fim de analisar a solução quantitativamente.
- <u>Desenvolvimento do Software</u>: concepção do um programa de computador necessário para a realização da solução junto ao dispositivo.
- <u>Análise dos resultados obtidos</u>: A partir dos resultados obtidos através dos testes, analisar se a solução selecionada corresponde conforme o esperado, sua viabilidade e funcionalidade.

Os cronogramas das atividades dos dois semestres estão afixados em anexo.

#### 4. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 4.1. Testes em um Protótipo Simples

Durante o primeiro momento de estudo tentou-se construir um dispositivo simples que conseguisse verificar os tipos de falhas mais básicos que podem ocorrer no tecido. Inicialmente procurou-se um resultado mais qualitativo.

#### 4.1.1. Estudo de Viabilidade Física

Existem inúmeros aspectos que podem ser analisados em um tecido biológico como o pericárdio, e muitos deles são fundamentais para definir o tempo de vida da válvula, como a presença de furos ou rasgos, espessura, uniformidade, direção das fibras, presença de camadas de gorduras, etc. O dispositivo já terá utilidade se conseguir verificar pelo menos um aspecto de forma automatizada e não subjetiva. Como uma parte significativa dos testes é realizada no julgamento visual de um especialista, há uma grande chance de se obter sucesso realizando o mesmo teste sob a visão de um computador. A partir da análise de imagens é possível conseguir observar vários dos aspectos importantes simultaneamente e a tentativa é de conseguir analisar o maior número de parâmetros possíveis.

Um aspecto importante do dispositivo também é o custo. A tecnologia disponível no mercado de fotografia digital tem aumentado significativamente através dos anos e, mesmo barateando o preço médio, as máquinas de maior qualidade continuam caras e acessíveis quase que somente a profissionais do ramo. Como o presente trabalho visa primeiramente testar a viabilidade do método, este será realizado com uma câmera fotográfica digital de uso comum e amador.

Para se obter uma imagem mais fiel e constante, será utilizada uma fonte de luz uniforme atravessando o tecido. A uniformidade da iluminação é importante para o resultado, pois isso ajudará a contrastar as irregularidades que se desejam observar. É preciso também comparar resultados de diferentes freqüências de luz (cores), pois o material deve absorver mais determinadas faixas do que outras, obtendo diferentes resultados.

A partir da imagem obtida da câmera, deve-se converter o formato de arquivo padrão para imagem tipo bitmap, em escalas de cinza. Com isso, consegue-se analisar numericamente a matriz de escalas de cinza para identificar os defeitos.

#### 4.1.2. A Construção do Protótipo

Inicialmente foi construída uma pequena matriz de LEDs na tentativa de se obter uma luz mais uniforme. A base foi utilizada de uma pequena lanterna de LEDs, mas foi modificada para assim conseguir-se trocar a coloração das luzes facilmente (Fig 4.1). Para facilitar, foram colocados três LEDs de cada cor e chaves para ligá-los separadamente (Fig. 4.2). Certamente, a utilização de somente três LEDs está longe do ideal, mas a princípio, o intuito era conhecer as melhores faixas de freqüência para identificar os defeitos.



Figura 4.1: Base da Matriz de LEDs.



Figura 4.2: Chaves para ligar cada cor independentemente.

Logo em seguida percebeu-se que a luz estava muito concentrada em um ponto focal e, por conta disso, foi utilizado um dispositivo com lente para difundir a luz.



Figura 4.3: Dispositivo com lente difusora acoplada à matriz de LEDs.

Feito isso, o passo seguinte foi testar a incidência da luz no vidro jateado. Testando as diferentes cores, percebeu-se que mesmo com o difusor, a luz na fotografia aparecia muito concentrada no centro da foto. Por conta disso, a idéia foi utilizar dois jateados.

Posteriormente, a tarefa foi encontrar as melhores distâncias para obter a relação mais eficaz entre uniformidade e intensidade da luz. Terminando esta fase, foi elaborado um dispositivo fixo para que pudessem ser realizados os testes. Inicialmente, os testes foram realizados em um pedaço de folha vegetal simulando o que ocorreria com o tecido.

#### 4.1.3. Detalhamento da Solução

Tendo definido alguns parâmetros iniciais, foi construído um protótipo para o teste de viabilidade nas dimensões de acordo com aquelas medidas na fase de estudo. Foi feito um esboço do projeto (Fig. 4.4) onde estão presentes todas as dimensões mais importantes do dispositivo.

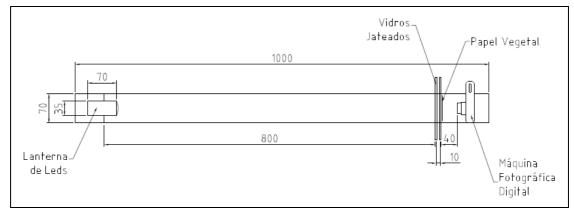


Figura 4.4: Esboço com as dimensões do projeto do protótipo.

Os materiais utilizados na fabricação foram:

- 1 pedaço de madeira de 10x70x1000mm
- 2 vidros jateados de medidas 4x100x150mm
- Câmera digital 7.2 Megapixels, Casio Exilim EX-Z75
- 1 pedaço de papel vegetal de medida 80x80mm
- 1 matriz de 12 LEDs
- 3 LEDs brancos de alta intensidade 3,6V
- 3 LEDs azuis de alta intensidade 3,6V
- 3 LEDs verdes de alta intensidade 3,6V
- 3 LEDs vermelhos de alta intensidade 3,6V
- 1 suporte de alumínio da lente
- 1 lente difusora
- 1 chapa de alumino
- 4 botões de liga/desliga
- 2 baterias 1,5V tamanha AA
- 1 suporte para bateria
- fios elétricos

#### 4.1.4. Método de Ensaio

Para realizar a simulação foi feito no papel vegetal uma dobra e um furo com o intuito de verificar qual freqüência discriminaria melhor os defeitos. Testes em laboratório serão realizados para resultados mais concretos e confiáveis.



Figura 4.5: Pedaço de papel vegetal com uma dobra no lado esquerdo e um furo no lado direito.

O dispositivo foi construído conforme o projeto com o intuito de estabilizar o conjunto e assim garantir condições iguais para cada cor. O papel vegetal foi posicionado entre ó último vidro e a câmera fotográfica, conforme a Figura 4.4. A máquina fotográfica CCD foi fixada e as fotos foram tiradas testando as diferentes cores e com as seguintes configurações:

- Modo Monocromático.
- Foco Macro
- ISO 400
- Abertura 3,1mm
- Tempo de exposição de 0,2 segundos
- Temporizador de 2 segundos

As fotos foram tiradas no modo monocromático para facilitar a análise pelo computador. O temporizador foi utilizado para garantir a estabilidade da máquina enquanto estavam sendo tiradas as fotos, pois o aperto do botão da máquina poderia interferir. Assim como se procurou manter o local escuro para não haver interferência de outras luzes.

#### 4.2. Testes em Laboratório

Com a finalidade de obter resultados mais precisos e confiáveis, foram realizados testes em laboratório de óptica visando caracterizar cada componente a ser utilizado no experimento. Tudo feito em condições controladas para que os resultados fossem os mais precisos possíveis.

#### 4.2.1. Obtenção de Imagens com Laser

O teste com o laser foi realizado no laboratório de óptica do Instituto de Física da USP. Devido à indisponibilidade de alguns equipamentos, foi utilizado um laser de baixa potência infravermelho, e não um de HeNe como era esperado. Todo o conjunto foi montado em cima de uma mesa óptica de granito devidamente amortecida. O feixe de laser foi apontado para um filtro de luz e em seguida refletia em um espelho para um direcionamento. Posteriormente atravessava o pericárdio repousado sobre uma placa de vidro transparente sendo finalmente detectado pela câmera CCD de alta sensibilidade.

O sinal da câmera era enviado para uma placa de aquisição de imagens que estava acoplada a um computador e simultaneamente a um monitor. As imagens eram acompanhadas em tempo real pelo monitor e gravadas no computador. A figura 4.6 esquematiza a disposição. Devido à falta de resultados válidos nesta experiência, não foi tomada nenhuma imagem.

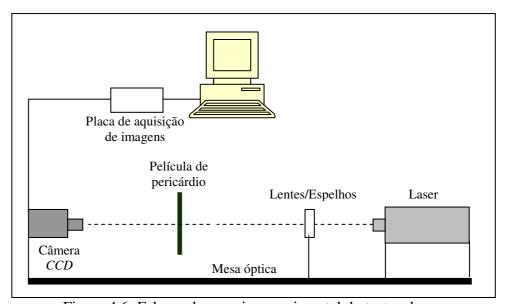


Figura 4.6: Esboço do arranjo experimental do teste a laser.

19

4.2.2. Obtenção de Imagens com Microscópio

O princípio de tentar ponderar a direção das fibras através da superfície pode

ser validado pela hipótese de que isso ocorra com o pericárdio assim como ocorre

com muitos outros materiais biológicos. É possível verificar a direção dos veios de

uma tábua de madeira apenas observando externamente, assim como ocorre com as

fibras musculares. Com base nessa hipótese, encontra-se justificativa para que as

imagens da superfície do material possam ser utilizadas.

A aquisição dessas imagens por meio de microscópio foi realizada no

Laboratório de Fenômenos de Superfície da Escola Politécnica da USP. Para este

trabalho foi utilizado um estereoscópio da marca Nikon, com 2 fontes de luz

ortogonais entre si incidindo inclinadamente com as seguintes especificações:

Estereoscópio Nikon SMZ800:

Objetiva: 10x

Projetiva: 6,3x

Ângulo de incidência da luz: de 20° a 30°

Câmera CCD Nikon DXM1200F:

Resolução: 3840x3072 pixels

CCD de 2/3in de alta densidade com 1,45 milhões de pixels efetivos.

Software de Aquisição de Imagens ACT-1 V. 2.63:

Formato de Gravação: .jpg

O processo consistia em diferentes tomadas de disposição do material com

diferentes posições de incidência de luz (mas sempre mantendo a mesma angulação).

Foram analisadas duas amostras de material: uma proveniente da Divisão de

Bioengenharia do Incor e outra do Instituto St. Jude Medical.

Foram tomadas 3 imagens da amostra do Incor, sendo que duas delas do

mesmo local alterando apenas a posição da iluminação. Posteriormente foram

tomadas 3 fotos da amostra do St. Jude, sendo que uma delas foi feita mudando a

superfície exposta (virando o tecido).

Como as luzes estavam fixas (duas fontes inclinadas e ortogonais entre si) foi rotacionado o pedaço do pericárdio até conseguir obter uma imagem com bons contrastes. Pelo fato da luz estar fixa, os ângulos encontrados nas fibras dos materiais ficaram próximos.

#### 4.2.3. Processamento da Imagem

A fim de analisar as imagens digitalmente utilizou-se o programa de código aberto GNU-Octave V. 3.0.1. Para realizar a análise foi utilizado o método Fast Fourier Transform (FFT), este anteriormente descrito na Revisão da Literatura.

Num primeiro momento, a imagem do microscópio foi processada manualmente para tons de cinza e reduziu-se a resolução para 512x512 pixels. Em seguida, a imagem foi salva em formato PNM, o que fez com que cada pixel ficasse arquivado como um número escalar entre 0 e 255 representando a escala de cinza, e todos armazenados num vetor linear de 262 mil elementos.

A partir do software Octave, o vetor foi distribuído em uma matriz quadrada. Assim, a partir de uma linha ou coluna da matriz realizou-se a transformada de Fourier. Do resultado calculou-se o módulo de cada elemento complexo e com isso foi possível verificar as localidades da função onde ocorriam os maiores picos.

As 5 primeiras raias de todas as transformadas foram descartadas por acumularem erros do processo. O local onde ocorre o pico da função corresponde ao comprimento da onda do sinal das escalas de cinza, ou seja, o comprimento da fibra (ou rugosidade) naquela direção. E com duas direções ortogonais e a aplicação de uma geometria simples é possível calcular o ângulo.

O algoritmo das funções encontra-se em anexo.

#### 5. RESULTADOS OBTIDOS

#### 5.1. Resultados Preliminares

Os primeiros resultados obtidos foram as fotos obtidas com diferentes cores sem o papel vegetal e com apenas 1 vidro jateado (Fig. 5.1, Fig. 5.2 e Fig. 5.3).

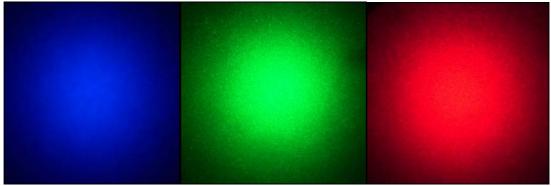


Figura 5.1: Teste realizado com a luz azul, verde e vermelha separadamente, incidindo sobre apenas 1 jateado.

Depois, com dois jateados verificou-se as distâncias necessárias para se obter os melhores resultados da uniformidade de luz.

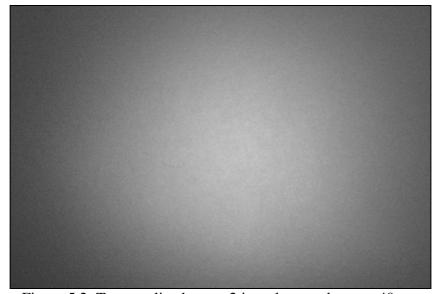


Figura 5.2: Teste realizado com 2 jateados, sendo um a 40mm da câmera e o outro a 300mm.

(Lanterna a 800mm de distância da câmera)

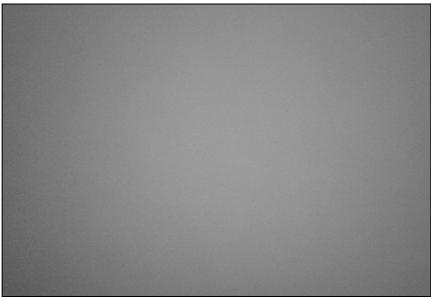


Figura 5.3: Teste realizado com 2 jateados, sendo um a 40mm da câmera e o outro a 80mm.

(Lanterna a 800mm de distância da câmera)

Na sequência, foto obtida do dispositivo de testes, depois de pronto e montado. A falta da câmera na foto deve-se ao fato dela estar sendo utilizada para a obtenção desta fotografia.



Figura 5.4: Protótipo de testes fabricado.

Finalmente, foram obtidas as imagens do papel vegetal de testes sob as diferentes frequências de luz.



Figura 5.5: Imagem obtida do papel vegetal de teste sob a luz branca.



Figura 5.6: Imagem obtida do papel vegetal de teste sob a luz azul.

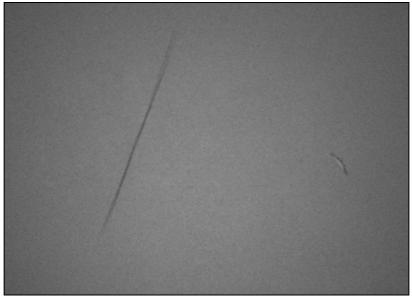


Figura 5.7: Imagem obtida do papel vegetal de teste sob a luz verde.



Figura 5.8: Imagem obtida do papel vegetal de teste sob a luz vermelha.

#### 5.2. Resultados Finais

Os testes realizados com laser infravermelho não produziram nenhum resultado válido para qualquer tipo de análise. A imagem obtida se assemelha muito a um chuvisco estático de televisor comum, onde não foi possível perceber qualquer relação com o material.

A seguir as imagens obtidas através do estereoscópio com luz inclinada do material fornecido pelo Incor:

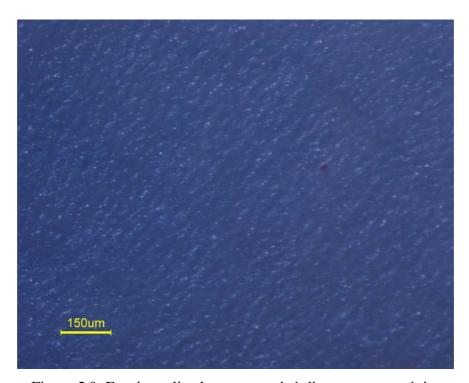


Figura 5.9: Ensaio realizado com o pericárdio no estereoscópio.

A seguir duas fotografias do mesmo local, onde a única diferença é da luz na primeira incidindo da direção do canto superior esquerdo e a na segunda do canto superior direito.

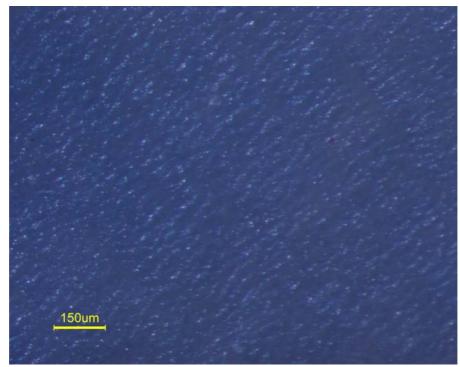


Figura 5.10: Imagem com luz incidindo do canto esquerdo superior

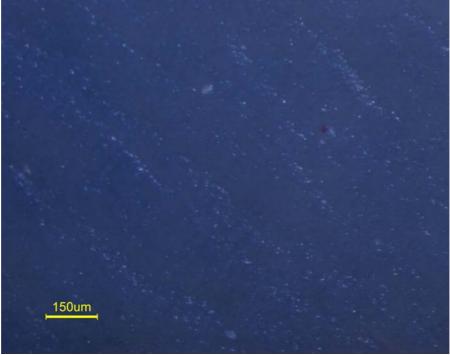


Figura 5.11: Mesmo local da imagem anterior, agora com luz incidindo no canto direito superior.

Imagens do material da St. Jude Medical:

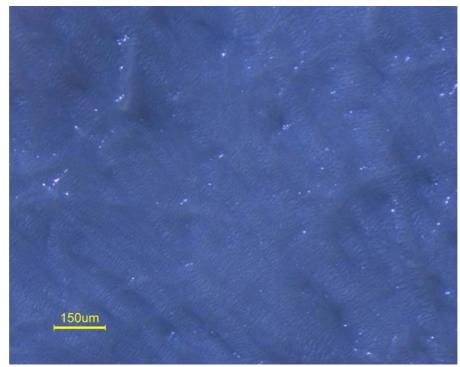


Figura 5.12: Lado rugoso da película de pericárdio

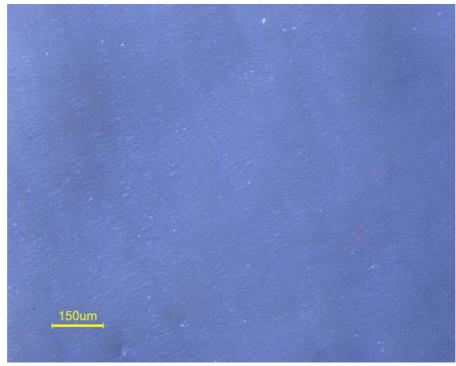
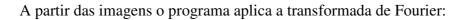


Figura 5.13: Lado liso do material da St. Jude



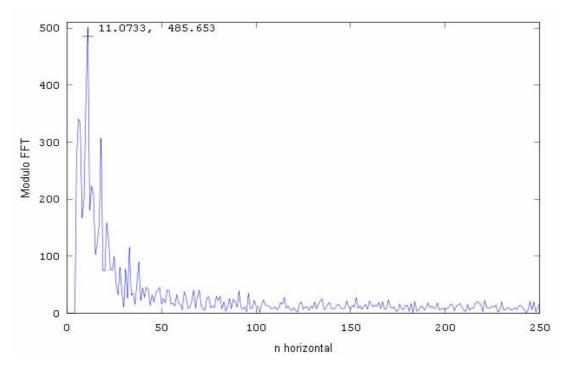


Figura 5.14: Gráfico resultante do módulo da FFT aplicada em uma linha.

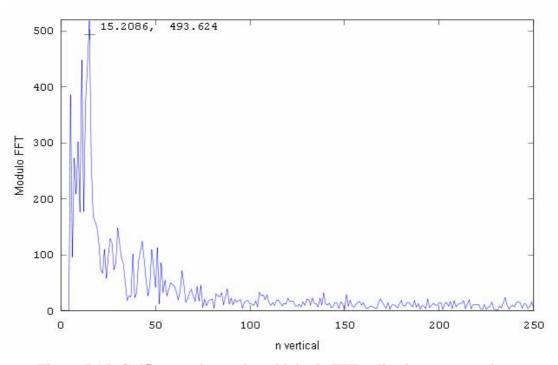


Figura 5.15: Gráfico resultante do módulo da FFT aplicada em uma coluna.

Assim, com as imagens de 512x512 de resolução do microscópio foi possível calcular a direção das fibras. As linhas foram desenhadas manualmente com os ângulos fornecidos pela saída do programa.

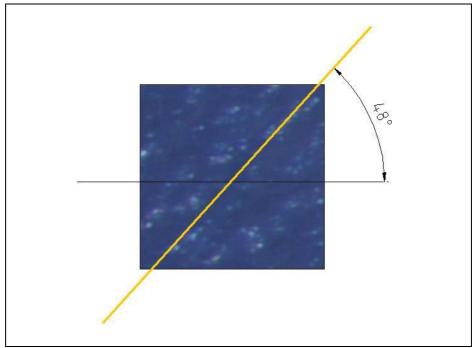


Figura 5.16: Resultado obtido da imagem do pericárdio fornecido pelo Incor.

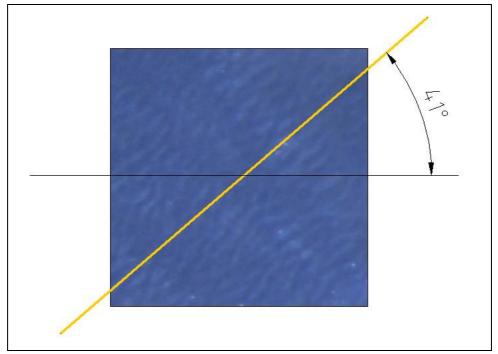


Figura 5.17: Resultado obtido da imagem do material fornecido pela St. Jude.

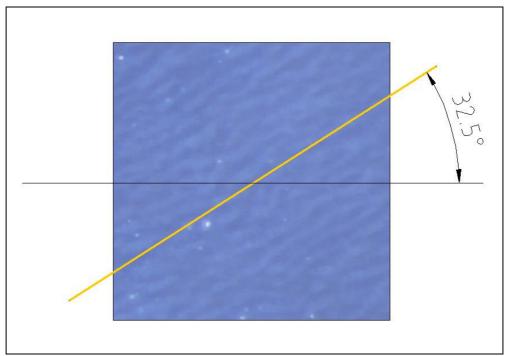


Figura 5.18: Resultado obtido da imagem do lado liso do pericárdio fornecido pela St. Jude.

#### 6. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS E CONCLUSÕES

Este trabalho teve uma primeira fase que foi válida para inserir o estudo no contexto do problema e foi significativa para o andamento de todo o conjunto. Esta fase constituiu na construção de um protótipo de testes juntamente com um largo trabalho de pesquisa para se ambientar no assunto.

O levantamento bibliográfico conseguiu achar dados relevantes para o projeto, como detalhes da fabricação do pericárdio bovino. Também é importante para o entendimento do problema compreender qual é a função das válvulas no coração e os diferentes tipos de válvulas. Junto com algumas das entrevistas as informações se complementaram, conseguindo assim uma visão ao mesmo tempo geral e detalhada sobre o assunto.

Vale ressaltar que a demora para a realização de algumas entrevistas residiu na dificuldade de conseguir falar com especialistas da área médica com um determinado tempo disponível. Em algumas ocasiões a conversa teve um tempo muito limitado, tendo assim que ser continuada em um outro momento. O fato de a bioengenharia ser uma área nova no campo da medicina também ajudou a aumentar a dificuldade, pois em alguns casos o profissional contatado se encontrava em outros estados.

A partir das primeiras fotografias obtidas da luz colorida através do vidro jateado, já foi possível observar que a intensidade no meio é muito maior do que nas bordas. A solução que se achou para tanto foi a utilização de dois vidros jateados ao invés de um. Isso produziu um efeito melhor na distribuição de luz, mas diminuiu a intensidade média da luz final.

Com as imagens feitas de diferentes distâncias dos vidros, observou-se que quanto maior a proximidade dos dois jateados, mais distribuída ficava a luz. Além disso, quanto maior a distância da fonte de luz, mais uniforme fica a luz que atravessa os jateados, obtendo assim um resultado favorável para a análise. O fator limitante é a intensidade que cai com o aumento da distância, precisando assim ser achado um ponto ótimo.

O dispositivo foi construído a partir das distâncias obtidas considerando estes três aspectos: distribuição, uniformidade e intensidade da luz. As medidas irão variar

de acordo com cada tipo de projeto. Uma matriz mais distribuída pode não exigir a presença de dois vidros e um maior número de LEDs permite uma foto com mais definição. Como este primeiro dispositivo visa verificar a viabilidade da solução, os resultados obtidos foram considerados satisfatórios.

Analisando as Figuras 5.7, 5.8, 5.9 e 5.10 é possível verificar que aquela que obteve o melhor resultado foi a luz verde, pois teve uma melhor definição e claridade em comparação às outras. Um defeito bem definido na foto facilita a execução do algoritmo do programa. É importante ressaltar que neste teste não foi possível analisar as direções das fibras de colágeno.

A segunda etapa deste trabalho teve uma abordagem mais técnica sobre a questão. Além de testes em laboratório foi realizada uma pesquisa adicional para complementar este tipo de abordagem.

O primeiro teste, realizado com laser, obteve resultados muito ruins, longe do esperado. Isso provavelmente pode ter acontecido pelo fato de ter sido utilizado um laser infra-vermelho e não de HeNe que possui um comprimento de onda menor. Uma tentativa futura de utilizar o laser precisaria ser realizada senão com o laser de HeNe, com outro que possua um comprimento de onda na mesma escala. Um anteparo para projetar a imagem antes de fotografar com a câmera é também uma idéia muito válida para fins de facilitar a visualização.

Visto que os resultados obtidos do laser não foram satisfatórios, recorreu-se à utilização de imagens de microscópio, embasados na hipótese de que é possível verificar a direção média das fibras internas analisando sua superfície. Apesar de ser ainda uma hipótese, isso poderia tentar ser comprovado em um trabalho posterior.

As imagens obtidas foram de grande importância. Primeiramente foi observado um pedaço do material fornecido pelo Incor, onde é fácil verificar a presença de um direcionamento, ao menos da rugosidade da superfície. A posição da fonte de luz também é de extrema importância (como pode-se verificar comparando as fig. 5.11 e 5.12, que foram tiradas exatamente do mesmo local). Por este motivo, todos os materiais foram colocados com as ranhuras rotacionadas de 30° a 50° do eixo horizontal do observador, pois foi com esta angulação que se conseguia os melhores contrastes para a imagem. Quando se colocou a fonte de luz em uma

direção perpendicular àquela conseguida anteriormente ficou evidente a dificuldade de visualizar qualquer direcionamento.

Em seguida, observando-se as imagens do pericárdio fornecido pela St. Jude Medical, foi possível perceber outro fenômeno. A amostra possuía dois lados distintos. Um bem rugoso e cheio de veios e rebarbas e o outro visivelmente bem mais liso. Esta diferença deve-se principalmente pelo processo de aquisição do material, pois um lado está virado para o coração e o outro está virado para os tecidos externos.

Um fato que pode ser notado na Fig. 5.12, onde mostra o lado irregular da folha de pericárdio é que as rugosidades pequenas (e ao que tudo indica têm ligação direta com as fibras de colágeno) ficam sempre perpendiculares em relação à direção do veio maior onde estão. Isso ajuda muito a sustentar a hipótese onde seria possível verificar a direção das fibras apenas com a observação externa.

Por fim, o algoritmo para indicar a angulação das fibras utilizou o método da transformada de Fourier para realizar os cálculos. A teoria está tem como base o fato de que no momento em que se retira uma linha da imagem bidimensional teria-se um sinal periódico da escala de cinza correspondendo à rugosidade da superfície naquela direção. Tendo as duas direções principais x e y fica fácil calcular o ângulo utilizando regras simples de arco tangente.

A transformada de Fourier foi necessária exatamente para verificar a freqüência das escalas de cinza na imagem de mais ocorre, ou seja, o significado físico seria como discriminar a periodicidade mais evidente na imagem, que no caso é o das fibras que queremos analisar. O algoritmo guarda todo o conjunto de dados onde ocorrem o máximo da transformada de Fourier e depois calcula a média entre todos eles. Por fim, a saída do programa é uma variável *ang* que corresponde ao ângulo da fibra.

Colocando-se as direções apresentadas pelo programa em cima das imagens analisadas é possível observar um resultado plenamente satisfatório. O pequeno erro apresentado na Fig. 5.16 se deve ao fato de não estar com muita nitidez, fato que não ocorreu nos outros testes.

Portanto, tendo em vista o aspecto classificatório do trabalho, é possível afirmar que este conseguiu cumprir seu objetivo. Pesquisas posteriores podem seguir em cima dos fatos aqui levantados para produzir um sistema de verificação automático. Uma idéia de dispositivo poderia ter várias luzes iluminando o tecido em momentos e posições distintas (para se conseguir algumas imagens com melhor contraste) ou então com uma iluminação fixa e um suporte giratório para o pedaço de pericárdio. Um estudo mais profundo para a verificação das hipóteses aqui tomadas também teria grande importância. Com toda a pesquisa envolvida seria plenamente possível melhorar a qualidade das válvulas cardíacas de pericárdio, podendo esta melhoria abranger também outros materiais biológicos.

#### 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] BRAILE, D. M. **Prótese valvular de pericárdio bovino desenvolvimento e aplicação clínica em posição mitral**. São Paulo, 1990, 110p. Tese (Doutorado) Escola Paulista de Medicina.
- [2] BRANDÃO, C. M. A.; POMERANTZEFF, P. M. A.; PUIG, L. B.; CARDOSO, L. F.; TARASOUTCHI, F.; GRIMBERG, M.; STOLF, N. A.; VERGINELLI, G.; JATENE, A. D. Substituição valvar em idosos com biopróteses de pericárdio bovino: resultados tardios de 12 anos. *Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular*, vol. 14, n. 1, p. 27-31. São José do Rio Preto, 1999.
- [3] FAPESP. **Válvulas de pericárdio bovino aumentam a sobrevida de pacientes cardíacos**. *Pesquisa Fapesp*. Site da Pesquisa Fapesp Online. Edição Impressa 28, 1998. <a href="http://www.revistapesquisa.fapesp.br/?art=331&bd=1&pg=1&lg=">http://www.revistapesquisa.fapesp.br/?art=331&bd=1&pg=1&lg=</a> Acesso em: 27 de março de 2008.
- [4] MANO, R. **Manuais de Cardiologia: Anatomia Cardíaca**. Site sobre cardiologia. <a href="http://www.manuaisdecardiologia.med.br/Anatomia/anatomia.htm">http://www.manuaisdecardiologia.med.br/Anatomia/anatomia.htm</a> Acesso em: 3 de abril de 2008.
- [5] VITO, R. P. Applications of Stereology to the Mechanics of Soft Tissues. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, Vol. 27, n.11, p. 1543-1544, 1979.
- [6] LAI, D.; RAO, N.; KUO, C. H.; BHATT, S.; DOGRA, V. Independent Component Analysis Applied to Ultrasound Speckle Texture Analysis and Tissue Characterization. *Proceedings of the 29th Annual International Conference of the IEEE EMBS*, Lyon, 2007.
- [7] SACKS, M. S.; SMITH, D. B.; HIESTER, E. D. A Small Angle Light Scattering Device for Planar Connective Tissue Microestrutural Analysis. *Annals of Biomedichal Engineering*. Vol. 25, p. 678-689, 1997.

- [8] MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Cirurgias Cardíacas**. Site do Instituto Nacional de Cardiologia. <a href="http://www.incl.rj.saude.gov.br/incl/paginas/ciru\_valvar.asp">http://www.incl.rj.saude.gov.br/incl/paginas/ciru\_valvar.asp</a> Acesso em: 28 de março de 2008.
- [9] GONZALEZ, R. C.; WOODS, R. E. **Digital Image Processing**. 2.ed. Nova Jersey, Prentice-Fall, 2002.
- [10] LINDLEY, C. A. **Pratical Image Processing in C**. 1.ed. John Wiley & Sons, 1991.
- [11] PRESS, W.H.; TEUKOLSKY, S.A.; VETTERLING, W.T.; FLANNERY, B.P. **Numerical Recipes in C: The Art of Scientific Computing**. 2 ed. Cambridge University Press, 1992.

#### **ANEXOS**

### #FUNÇÃO PARA APLICAR A FFT E CALCULAR A DIREÇÃO DAS FIBRAS.

```
#Rotina para transformar o vetor do arquivo .pnm em uma matriz de 512x512.
for i=1:512
 for j=1:512
  M(i,j)=m(((i-1)*512)+j);
 endfor
endfor
#Rotina para aplicar a FFT em todas as linhas da matriz.
for i=1:512;
 for j=1:512
  l(j)=M(i,j);
 endfor
 p=fft(l); #Aplicação da FFT.
 a=real(p);
 b=imag(p);
 for j=1:512
  x(j)=a(j)*a(j);
  y(j)=b(j)*b(j);
 endfor
 g=(x+y);
 for j=1:512
  f(j)=(g(j))^{\Lambda}(1/2); #Cálculo dos módulos dos números complexos.
 endfor
 #Função para selecionar o local onde ocorre o pico.
 fmax=0;
 for j=5:250
  if (f(j)>fmax)
   fmax=f(j);
   s=j;
  endif
 endfor
 H(i)=s;
endfor
#Por fim calculando a média de todas as distâncias horizontais obtidas.
sH=0;
for i=1:512
 sH=sH+H(i);
endfor
mH=sH/512;
```

```
#Rotina para aplicar a FFT em todas as colunas da matriz.
for j=1:512;
 for i=1:512
  c(i)=M(i,j);
 endfor
 p=fft(c); #Aplicação da FFT.
 a=real(p);
 b=imag(p);
 for i=1:512
  x(i)=a(i)*a(i);
  y(i)=b(i)*b(i);
 endfor
 g=(x+y);
 for i=1:512
  f(i)=(g(i))^{\Lambda}(1/2); #Cálculo dos módulos dos números complexos.
 endfor
 #Função para selecionar o local onde ocorre o pico.
 fmax=0;
 for i=5:250
  if (f(i)>fmax)
   fmax=f(i);
   s=i;
  endif
 endfor
 V(j)=s;
endfor
#Por fim calculando a média de todas as distâncias verticais obtidas.
sV=0;
for j=1:512
sV=sV+V(j);
endfor
mV=sV/512;
# Cálculo do ángulo da direção das fibras:
Ang=(atan(mH/mV))*180/pi
```