

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM

BIOTECNOLOGIA - PPG BIOTEC.

“Desenvolvimento de um Oftalmoscópio Binocular Indireto com Sistema Eletrônico Cromático de Iluminação e Módulo de Aquisição de imagens”

Orientador: Prof. Dr. Luis Carlos Trevelin

Orientador: Prof. Dr. Fernando M. Araújo-Moreira.

Aluno: Thiago Bellini Oliveira

São Carlos

Maio/2009

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM

BIOTECNOLOGIA - PPG BIOTEC.

“Desenvolvimento de um Oftalmoscópio Binocular
Indireto com Sistema Eletrônico Cromático de
Iluminação e Módulo de Aquisição de imagens”

Orientador: Prof. Dr. Luis Carlos Trevelin

Orientador: Prof. Dr. Fernando M. Araújo-Moreira.

Aluno: Thiago Bellini Oliveira

Dissertação apresentada ao PPG-Biotec, da Universidade
Federal de São Carlos, para obtenção do título de Mestre em
Ciências: Biotecnologia.

São Carlos

Maio/2009

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

O48do

Oliveira, Thiago Bellini.

Desenvolvimento de um oftalmoscópio binocular indireto com sistema eletrônico cromático de iluminação e módulo de aquisição de imagens / Thiago Bellini Oliveira. -- São Carlos : UFSCar, 2009.
63 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2009.

1. Engenharia biomédica. 2. Oftalmoscopia. 3. Realce de contraste. 4. Retina. I. Título.

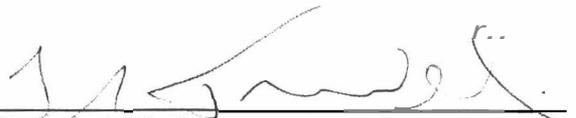
CDD: 610.28 (20ª)

Thiago Belini Oliveira

Dissertação de Mestrado submetida
à Coordenação do Programa de
Pós-Graduação em Biotecnologia,
da Universidade Federal de São
Carlos, como requisito parcial para
a obtenção do título de Mestre em
Biotecnologia

Aprovado em: 13/05/2009

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Luis Carlos Trevelin (Orientador)
Universidade Federal de São Carlos – DC/UFSCar



Prof. Dr. Julio Zukerman
Universidade Federal de São Carlos - DQ/UFSCar



Prof. Dr. Luis Alberto Vieira de Carvalho
UNIFESP – São Paulo

Agradecimentos.

Primeiramente aos meus pais, Deoclides Oliveira e Wladecira Bellini Oliveira, mais importantes que Deus nos momentos difíceis.

A todas as pessoas de minha família que acreditaram em mim.

A minha namorada Daniela por ter sido sempre compreensiva nos momentos difíceis.

Ao pai criador que possui todas as respostas para as horas de conflito.

Aos professores Luis Carlos Trevelin e Fernando M. Araújo Moreira, que abriram as portas para meu ingresso neste mestrado.

Ao professor Luis Alberto Vieira de Carvalho, pela orientação e auxílio em todos os aspectos relacionados a este trabalho.

Ao professor Vanderlei Bagnato de quem amadureceu a idéia que originou o projeto deste mestrado.

Aos amigos do Laboratório de Eletrônica do IFSC/USP (LIEPO), em especial ao Dennis e o João, cuja competência deve ser reconhecida.

Aos amigos da oficina mecânica e oficina de óptica do IFSC/USP, também pessoas de alto nível profissional a quem eu agradeço pelos serviços prestados.

Ao pessoal das secretarias da UFSCAR e da USP, em especial a Isabel que é uma pessoa especial.

A todos que de alguma forma me ajudaram durante esses dois anos de trabalho, meus agradecimentos.

Resumo

O contraste cromático é uma técnica usada em algumas áreas da medicina com o objetivo de melhorar o realce de imagens biológicas, proporcionando uma melhor visualização das estruturas presentes no tecido vivo. Baseado em princípios de composição de cores, um novo sistema de iluminação foi construído usando-se LEDs (do inglês, Light Emitting Diodes) coloridos de alto brilho, cuja função é reproduzir os comprimentos de onda situados na região visível do espectro. Este recurso será adaptado a um equipamento denominado Oftalmoscópio Binocular Indireto, com o intuito de se estudar as reações dos tecidos biológicos que compõem o fundo do olho humano quando iluminados por cores diferentes.

Abstract

Chromatic contrast is a technique used in some areas of medicine to provide better visualization of biological tissues. Based on principles of color composition, a new illumination system was constructed using colored emitting diodes to reproduce the spectral range of the visible light. This technique was devised to be used into indirect ophthalmoscopes to improve the visualization of the posterior segment of the eye.

Sumário

Resumo	i
Abstract.....	ii
Sumário	iii
Lista de Figuras.....	iv

Capítulo 1

O Olho Humano.....	1
1.1 Estrutura Biológica do Olho	2
1.2 Doenças Oculares.....	3
1.2.1 Degeneração Macular	3
1.2.2 Descolamento de Retina	4
1.2.3 Distúrbio dos Vasos Sangüíneos.....	4
1.2.4 Retinopatia Arteriosclerótica	5
1.2.5 Retinopatia Diabética	5

Capítulo 2

Estado da Arte em Termos de Visualização de Fundo de Olho	8
2.1 Oftalmoscopia.....	8
2.2 Retinografia.....	13

Capítulo 3

Modelo de Representação de Cores e Contraste Cromático.....	18
3.1 Oftalmoscopia.....	19
3.2 Modelo de Cores.....	21
3.2.1 Modelo RGB e HSI.....	21
3.3 Contraste Cromático em Tecidos Vivos	23

Capítulo 4

Proposta de Trabalho.....	27
----------------------------------	-----------

4.1 Objetivos e Metas.....	28
4.1.1 Cronograma de Atividades	28
Capítulo 5	
Sistema Eletrônico Cromático de Iluminação e Resultados de Testes.....	30
5.1 Construção do Protótipo	30
5.2 Testes Preliminares	32
5.2.1 Composição Cromática	32
5.2.2 Captura de Imagens	34
5.2.3 Teste in vivo: Retina Humana Saudável.....	36
5.3 Discussão dos Resultados Preliminares.....	40
Referências Bibliográficas	47
Anexo 1: Artigo aceito para publicação.....	v
Anexo 2: Trabalho apresentado no formato de pôster – Research Day	vi

Lista de Figuras

Figura 1.1 Estrutura interna do olho humano	1
Figura 1.2 Caminho da luz até chegar à retina, onde a imagem é projetada e enviada para o cérebro através do nervo óptico.....	2
Figura 1.3 Degeneração Macular	3
Figura 1.4 Descolamento de retina	4
Figura 1.5 Cristais de colesterol freqüentemente são encontrados ao acaso em pacientes idosos e representam sinais de doença ateromatosa da circulação carotídea.	5
Figura 1.6 Retinopatia arteriosclerótica.....	5
Figura 1.7 Retinopatia inicial com microaneurismas difusos, hemorragias em “ponto e mancha”, e manchas algodinosas no pólo posterior	7
Figura 2.1 Diagrama óptico do oftalmoscópio direto	9
Figura 2.2 Oftalmoscópio Binocular Indireto	10
Figura 2.3 Diagrama do sistema de iluminação do oftalmoscópio indireto	11
Figura 2.4 Diagrama óptico do oftalmoscópio binocular indireto	11
Figura 2.5 Prisma binocular que estreita opticamente a distância pupilar a 15mm	12
Figura 2.6 Oftalmoscópio indireto sendo operado por um médico (esq.), e imagens de uma retina artificial capturas por um oftalmoscópio com câmera de vídeo acoplada (dir.).	13
Figura 2.7 Exame de angiografia fluoresceínica.....	15
Figura 2.8 Diagrama óptico ilustrando o sistema de iluminação, o sistema de observação e o sistema de captura de imagem em um retinógrafo	16
Figura 2.9 Técnica de iluminação do fundo do olho	16
Figura 2.10 Imagens obtidas pela retinografia digital.....	17
Figura 3.1 Espaço de cores XYZ	18

Figura 3.2 Região visível do espectro situado no intervalo de 400 a 800nm	19
Figura 3.3 Três cores primárias e suas combinações para produzir cores secundárias	20
Figura 3.4 Modelo RGB de representação de cores	21
Figura 3.5 Modelo HSI	22
Figura 3.6 Lesões de pele visualizadas com diferentes contrastes.....	23
Figura 3.7 Modelo físico capaz de prever a coloração do fundo ocular aplicado na detecção de retinopatia diabética	23
Figura 3.8 Células do fígado de rato visualizadas com um microscópio com sistema de iluminação baseado no modelo RGB	24
Figura 3.9 Imagens do pólo posterior em exames de Retinografia colorida em (a) e Red Free em (b)	25
Figura 4.1 Esquema de lentes e espelhos do sistema compositor de luz utilizando como base três fontes de luz nas cores vermelho, verde e azul.....	31
Figura 4.2 Protótipo de bancada para testes de composição de luz colorida através de comando eletrônico.	32
Figura 4.3 Protótipo de bancada realizando primeiros testes	33
Figura 4.4 Sistema de captura de imagens.....	34
Figura 4.5 Imagens do olho mecânico.....	35
Figura 4.6 Protótipo para testes e nova interface eletrônica	36
Figura 4.7 Equipamento realizando composição espectral	37
Figura 4.8 Gráfico indicando a transmitância de cada espelho e LED	38
Figura 4.9 Oftalmoscópio fixo comandado por interface eletrônica micro controlada.	39
Figura 4.10 Interface gráfica do software que comanda o dispositivo eletrônico.	40
Figura 4.11 Esquema de configuração da interface eletrônica.	41

Figura 4.12 Interface eletrônica micro controlada.....42

Figura 4.13 Imagens olho mecânico e teste *in vivo*.42

O Olho Humano.

Neste capítulo será feita uma breve abordagem referente à anatomia do olho humano, bem como algumas patologias que podem ser detectadas através de exames de fundo de olho. Estes exames são úteis por permitirem a visualização da parte interna do olho para verificação do estado de saúde do mesmo.

1.1 Estrutura Biológica do Olho

Anatomicamente, o olho humano é um globo, com aproximadamente 23 mm de diâmetro ^[1]. Visualmente, o globo ocular pode ser desenhado como um sistema óptico que refrata a luz incidente em sua parte anterior para formar a imagem real ^[1]. As partes básicas do olho são mostradas na figura 1.1.

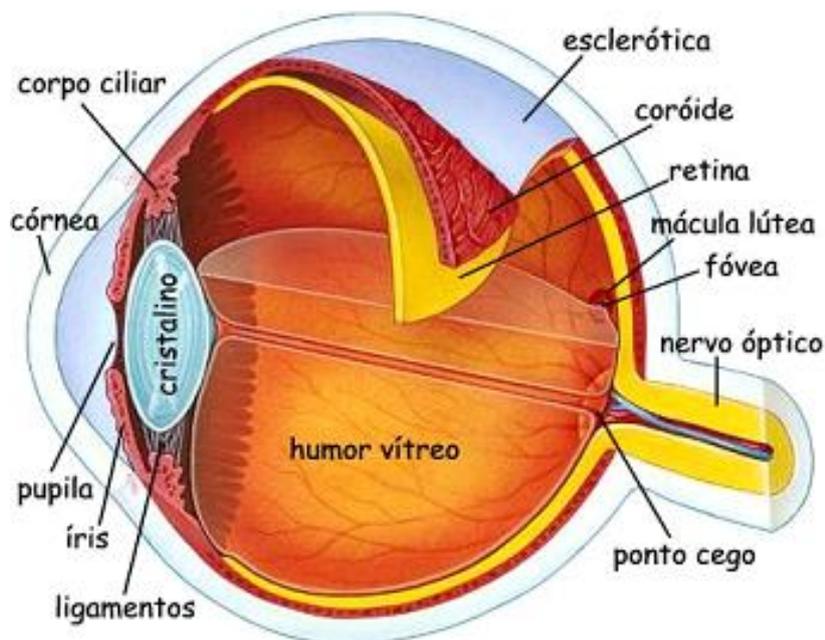


Figura 1.1 - Estrutura interna do olho humano.

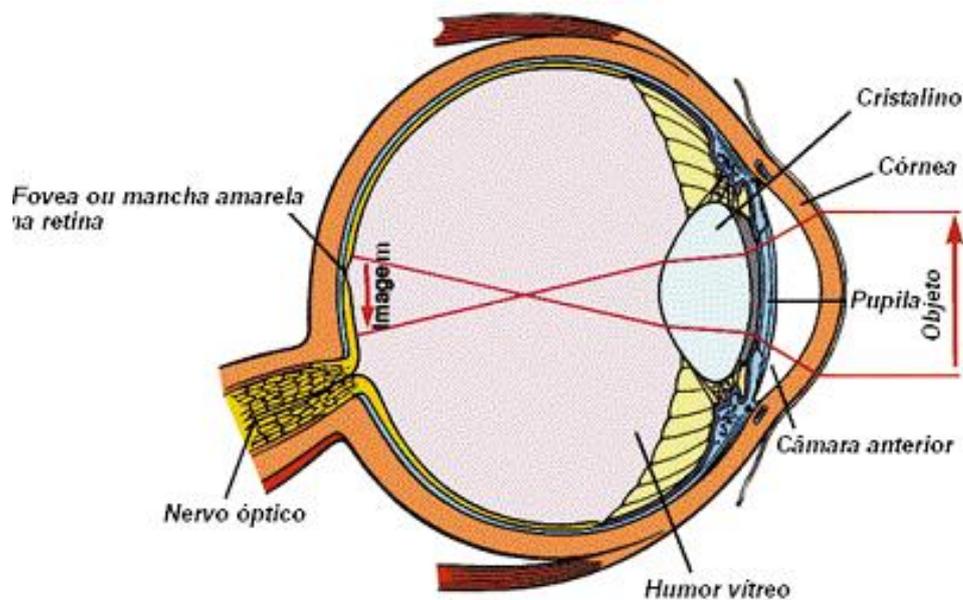


Figura 1.2 - Caminho da luz até chegar à retina, onde a imagem é projetada e enviada para o cérebro através do nervo óptico.

Conforme ilustrado na figura 1.2, a luz entra no olho primeiramente pela córnea, um tecido transparente destituído de vasos sanguíneos, mas com abundância de células nervosas. Logo depois, tem-se a íris, uma espécie de diafragma que dá ao olho a cor característica e controla a quantidade de luz que entra. A quantidade de pigmento na íris é o que determina se o olho será azul, verde, castanho. O orifício no centro da íris é conhecido como pupila, e é o local por onde a luz passa. A íris possui dois conjuntos de delicados músculos que alteram o tamanho da pupila em resposta ao estímulo de luz, ajustando o diâmetro desta.

Imediatamente após passar pela pupila, a luz incide no cristalino, uma estrutura transparente que faz o ajuste fino (foco) necessário durante o processo de formação da imagem, mudando sua conformação de maneira apropriada para que a imagem externa seja projetada corretamente na retina. A deformação da lente cristalina é controlada pelo corpo ciliar, que está ligado a ela através de fibras zonulares (ligamentos fig. 1.1). O humor vítreo é uma substância gelatinosa, constituída por fibras e células.

Depois de atravessar o humor vítreo, os raios de luz chegam até a retina. A retina é formada por células fotorreceptoras chamadas cones e bastonetes. Os bastonetes ultrapassam os cem milhões e são extremamente sensíveis à intensidade de luz. Os cones por sua vez, não chegam a dez milhões e se aglomeram próximo ao centro da retina. Os cones têm a função de detectar cores. Ligados às células fotorreceptoras existem três tipos de células nervosas (amácrina, bipolar, horizontal) que transmitem os pulsos nervosos para

o nervo óptico. O nervo óptico é o responsável por levar a informação visual da retina para o cérebro, completando então o processo conhecido como visão ^[1].

1.2 Doenças Oculares

Dentre as doenças que podem afetar o olho, estão aquelas relacionadas aos defeitos refrativos, que podem ser corrigidas pelo uso de lentes corretivas, e também doenças oculares, que podem ser originadas por diversos fatores como infecção bacteriana, diabetes, câncer entre outros. Este segundo tipo de patologia exige exames mais apurados e tratamentos especiais. Nas seções seguintes serão ilustradas algumas destas patologias.

1.2.1 Degeneração Macular

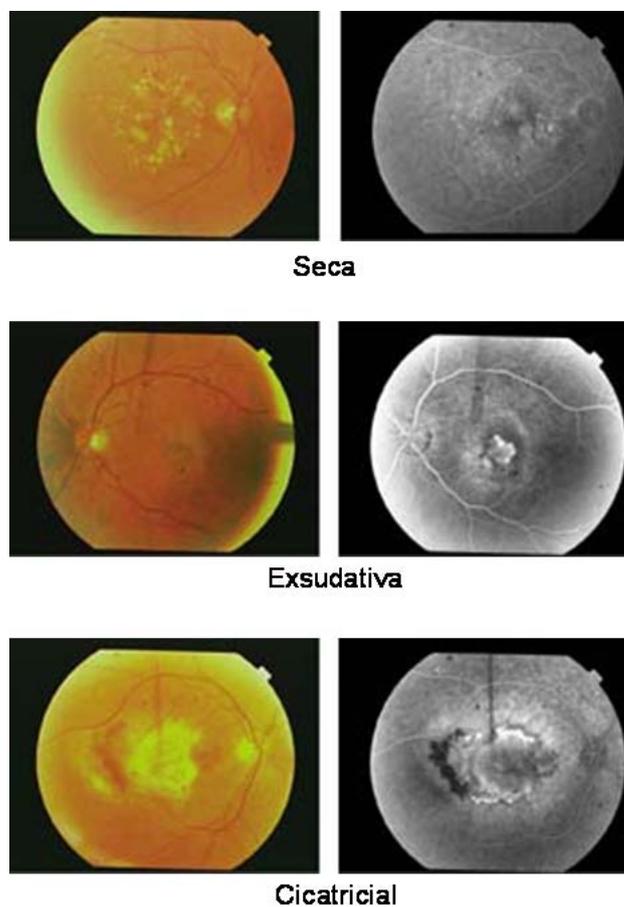


Figura 1.3 - Degeneração Macular ^[2].

A degeneração macular é uma doença na qual a mácula, a área central e mais vital da retina, degenera (figura 1.3). A doença afeta indivíduos idosos, é igualmente comum em homens e em mulheres. Existem duas formas de degeneração macular. Na degeneração macular atrófica (seca), ocorre o depósito

de um pigmento na mácula sem evidências de cicatrizes, sangue ou outra perda líquida. Na degeneração macular exsudativa (úmida), o material que extravasa (fluido ou sangue) forma um montículo freqüentemente circundado por pequenas hemorragias. Finalmente, o montículo contrai e deixa uma cicatriz (figura 1.3) [2].

1.2.2 Descolamento de Retina

O descolamento de retina é a separação da retina da parte subjacente que a sustenta. A malha de nervos que constitui a parte sensível à luz da retina forma uma película delgada aderida firmemente ao tecido de sustentação subjacente. Quando essas duas camadas se separam, a retina não pode funcionar e a menos que sejam reunidas, a lesão pode ser permanente. O descolamento de retina pode começar em uma pequena área, mas, quando não tratado, pode ocorrer descolamento de toda a retina [3].

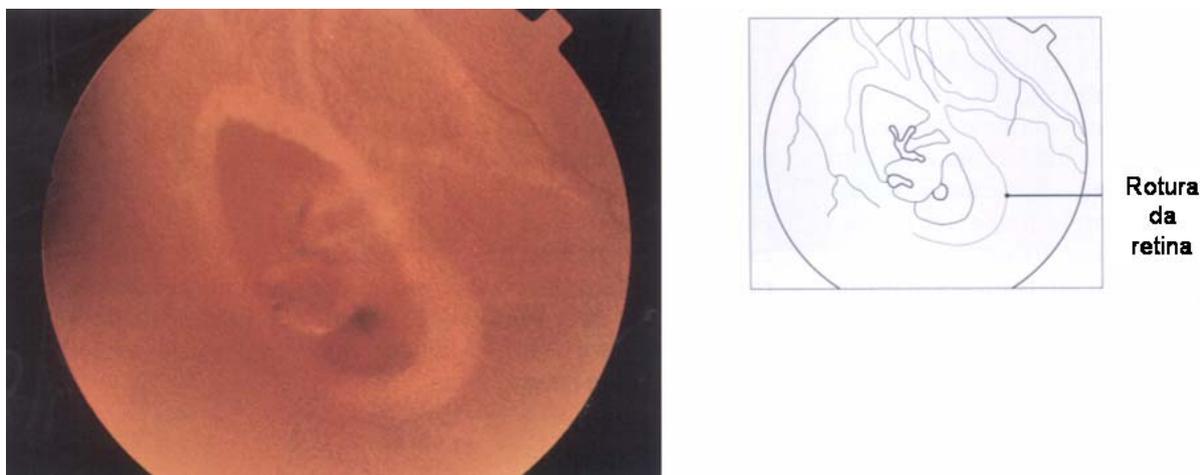


Figura 1.4 – Descolamento de retina [3].

1.2.3 Distúrbio dos Vasos Sangüíneos

Os distúrbios dos vasos sangüíneos que afetam o olho incluem o sangramento (hemorragia), o suprimento sangüíneo inadequado e a obstrução dos vasos. Esses distúrbios podem produzir conseqüências graves, lesando a retina (algumas vezes de modo permanente) e acarretando uma redução da visão e inclusive a cegueira. Eles também indicam que o indivíduo apresenta um alto risco de apresentar outros problemas (ex., um acidente vascular cerebral) [3].

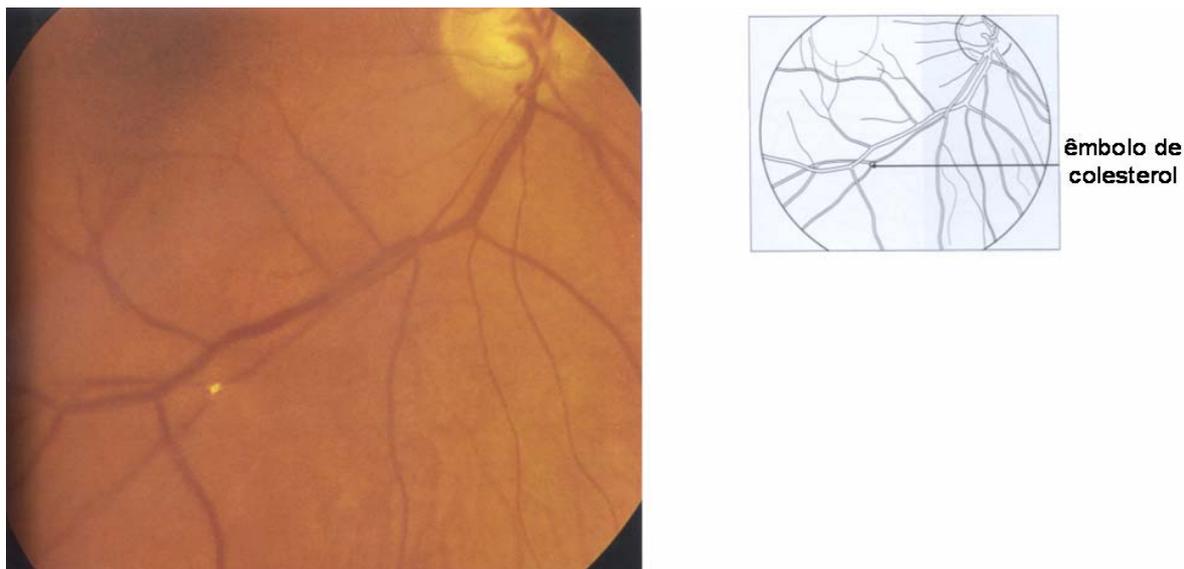


Figura 1.5 - Cristais de colesterol frequentemente são encontrados ao acaso em pacientes idosos e representam sinais de doença ateromatosa da circulação carotídea [3].

1.2.4 Retinopatia Arteriosclerótica

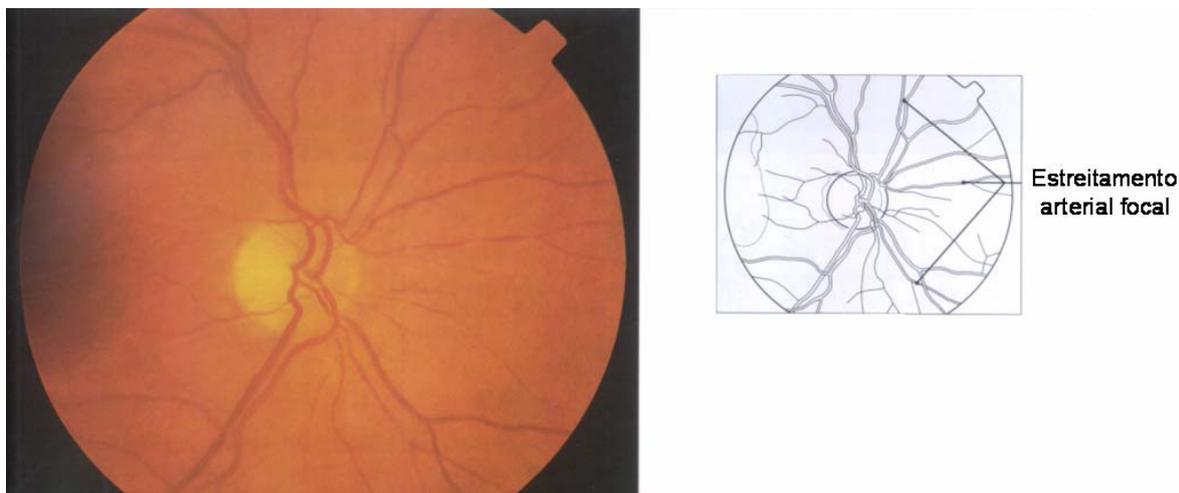


Figura 1.6 - Retinopatia arteriosclerótica [3].

Neste distúrbio, as pequenas artérias que levam o sangue até o olho tornam-se parcialmente obstruídas devido ao espessamento de suas paredes. Com o auxílio de um oftalmoscópio, o médico consegue observar os vasos sanguíneos espessados e outros sinais de redução do suprimento sanguíneo à retina. Embora o espessamento em si geralmente não comprometa a visão, ele indica que os vasos locais e os localizados em outras áreas do

corpo não estão saudáveis e que a prevenção e o tratamento são necessários ^[3].

1.2.5 Retinopatia Diabética

O diabetes pode causar dois tipos de alterações que se encontram entre as principais causas de cegueira: a retinopatia não proliferativa e a retinopatia proliferativa. Essas alterações podem ocorrer em diabéticos que utilizam insulina e naqueles que não a utilizam. O diabetes afeta a retina porque a concentração de açúcar (glicose) torna as paredes dos pequenos vasos sanguíneos mais espessas, porém mais fracas, e conseqüentemente, mais propensas a deformidades e escapes.

A extensão da retinopatia e da perda da visão está relacionada à qualidade do controle da concentração sérica de açúcar e, mais importante, ao tempo que o indivíduo apresenta o diabetes. Geralmente, a retinopatia somente ocorre 10 anos após o início da doença. Na retinopatia não proliferativa (de fundo), pequenos capilares da retina rompem e extravasam sangue. A área em torno de cada capilar roto torna-se edemaciada, formando pequenas bolsas nas quais as proteínas do sangue são depositadas. O médico diagnostica esta doença através do exame da retina.

A angiografia com fluoresceína (um procedimento no qual o médico injeta um corante em uma artéria, espera ele atingir a retina e, a seguir, realiza fotografias da retina) ajuda a determinar a extensão do problema. Nos estágios iniciais, a retinopatia não proliferativa não causa cegueira. As pequenas hemorragias retinianas podem distorcer partes do campo visual ou, quando se localizam próximas da mácula, podem borrar a visão. Na retinopatia proliferativa, a lesão da retina estimula o crescimento de novos vasos sanguíneos. Estes crescem anormalmente, acarretando a formação de cicatrizes e, algumas vezes, o descolamento de retina. Esses vasos podem crescer ou sangrar no interior da cavidade vítrea. A retinopatia proliferativa prejudica muito mais a visão que a retinopatia não proliferativa e pode levar à cegueira total ou parcial.

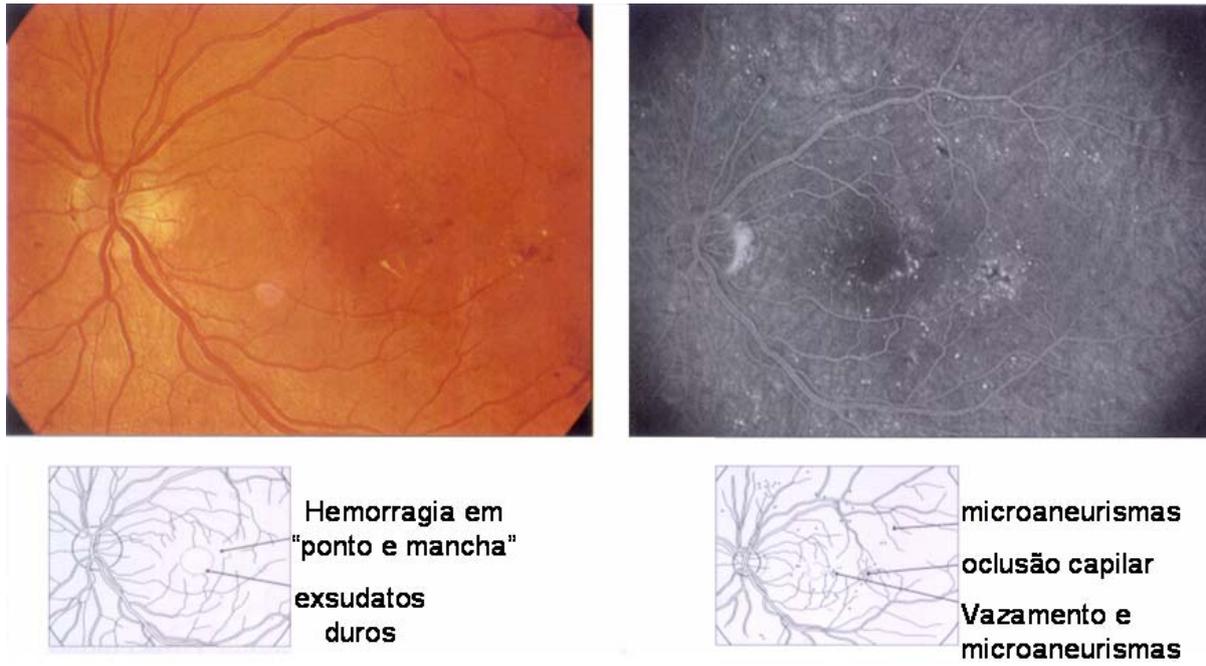


Figura 1.7 - Retinopatia inicial com micro aneurismas difusos, hemorragias em “ponto e mancha”, e manchas algodoadosas no pólo posterior ^[3].

O Estado da Arte em Termos de Visualização de Imagens de Fundo de Olho.

No capítulo 1 foi ilustrado brevemente a anatomia do olho humano incluindo a região do segmento posterior, onde estão incluídos o humor vítreo, a retina, a coróide e os vasos sanguíneos. Neste capítulo também foram evidenciadas com ilustrações reais alguns exemplos de doenças que podem atingir tal região do globo ocular, explicando de forma resumida o que cada sintoma significa para a saúde do olho do paciente. O exame de fundo de olho avalia as condições do humor vítreo, da retina, dos vasos sanguíneos (veias e artérias retinianas) e do nervo óptico. Além das doenças oculares, como glaucoma e retinopatia, é possível detectar outras enfermidades como diabete, distúrbios da tireóide, câncer, HIV, leucemia, toxoplasmose e inflamações reumáticas. O fundo do olho é o único local do corpo humano em que os vasos sanguíneos são vistos diretamente, e qualquer alteração neste local pode indicar um desequilíbrio. A oftalmoscopia e a retinografia são dois tipos de exames considerados “padrão ouro” em oftalmologia para visualização das partes internas do globo ocular, e os equipamentos utilizados nestes exames serão a base do assunto tratado neste capítulo.

2.1 Oftalmoscopia

Em exames de oftalmoscopia, existem atualmente dois tipos de equipamentos, denominados respectivamente de Oftalmoscópio direto e Oftalmoscópio indireto. O Oftalmoscópio direto é um instrumento óptico portátil e de iluminação própria, que possibilita o examinador olhar diretamente o olho do paciente. Este é um instrumento simples inventado por Hermann Von Helmholtz em 1851, e foi usado a primeira vez para ver o disco óptico, a retina, os vasos sanguíneos, a mácula e a coróide na superfície posterior do olho ^[1]. Hoje é usado para ver não somente os detalhes da superfície da retina, mas também a região ocular posterior da lente cristalina à retina. O princípio básico consiste em raios que originam da retina de um paciente emetrope (olho sem erros refrativos) e que focam sobre o olho de um observador também emetrope. Uma fonte de luz é dirigida à retina do paciente por um pequeno espelho angulado com uma área transparente, para permitir que a luz refletida da

retina seja visualizada ^[3]. O alinhamento da fonte de luz é crítico, por causa da retina ser vista somente quando a área iluminada e a área observada do fundo do olho coincidem. Este alinhamento pode ser feito por meio de um divisor de feixe, espelho ou prisma. Na maioria dos oftalmoscópios diretos, a metade inferior da pupila do paciente é iluminada por reflexão de luz através do prisma ou espelho, e a metade superior da pupila é usada para observação. Quando o paciente e o observador são ambos emetropes, a magnificação obtida com o oftalmoscópio direto é aproximadamente 15 vezes. O poder focal do olho do paciente de 60 D ($D = \text{dioptria}$) funciona como uma lente de 60° que resulta em uma imagem 15 vezes maior do que a retina aparentaria se ela fosse removida do olho e vista a 25 cm pelo observador.

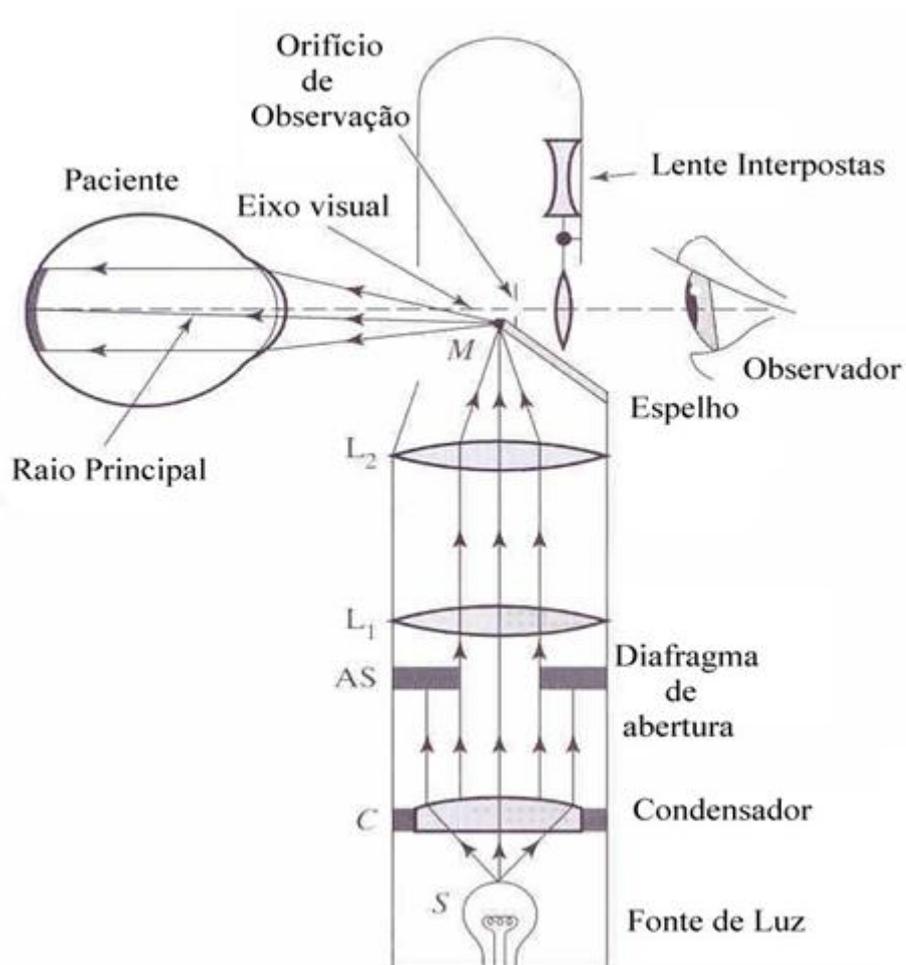


Figura 2.1 - Diagrama óptico do oftalmoscópio direto ^[1].

A figura 2.1 ilustra um oftalmoscópio típico, o feixe de luz parte da fonte S, passa por um

condensador saindo paralelamente e atinge o diafragma de abertura do sistema de lentes de iluminação. Este diafragma é variável para permitir ao observador escolher a abertura conforme a necessidade do ângulo visual da retina ser estreita ou larga. As lentes L_1 e L_2 permitem variar o tamanho do diâmetro do feixe de luz formada sobre o espelho M e conseqüentemente a área iluminada do fundo do olho. O campo visual de observação é determinado pelo diâmetro da pupila do olho do paciente. O fato do feixe de luz da iluminação estar fora do eixo visual, permite que as reflexões indesejáveis oriundas da superfície anterior da córnea sejam reduzidas significativamente.

O oftalmoscópio indireto é basicamente um oftalmoscópio direto em uma versão modernizada. A figura 2.2 ilustra um destes equipamentos disponíveis no mercado.



Figura 2.2 - Oftalmoscópio Binocular Indireto fabricado pela empresa Welch Allyn^[24].

Com o sistema de iluminação usado sobre a testa do observador, torna-se possível obter observações estereoscópicas de partes extensas da retina a pequenas magnificações. A estereoscopia está relacionada à capacidade de enxergar em três dimensões, isto é, de perceber a profundidade. A base para a percepção estereoscópica é a disparidade binocular do sistema visual humano, que gera duas imagens ligeiramente diferentes quando uma cena é projetada nas retinas dos olhos. As duas perspectivas diferentes das imagens são fundidas no córtex visual do cérebro, de forma a compor uma simples visão estereoscópica (tridimensional)^[23]. O diagrama óptico do sistema de iluminação é mostrado na figura 2.3.

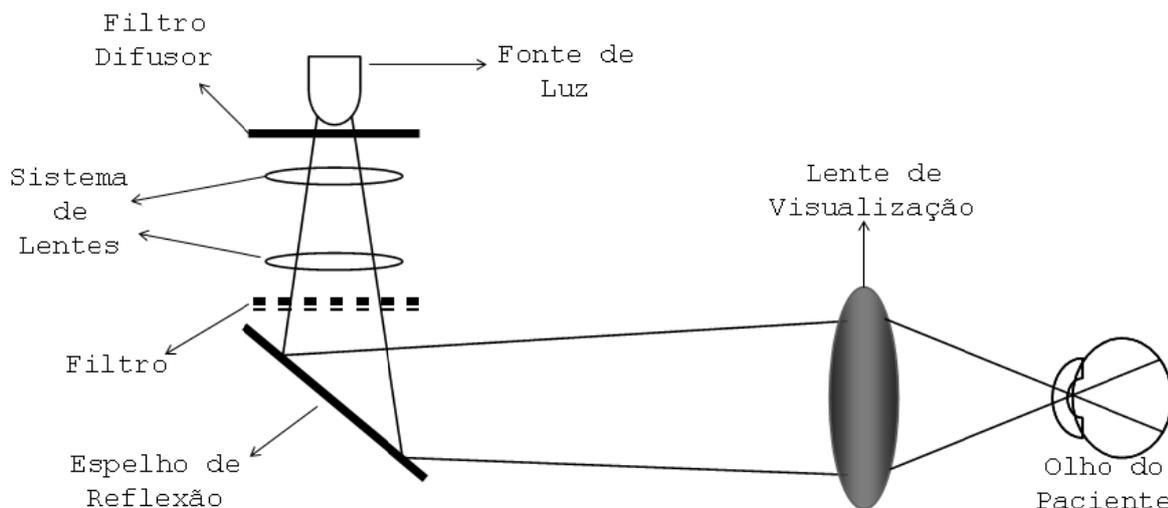


Figura 2.3 - Diagrama do sistema de iluminação do oftalmoscópio indireto [4].

O princípio do oftalmoscópio indireto consiste em focalizar o feixe de luz oriundo de uma extensa área da retina do paciente sobre a retina do observador por meio de uma lente de visualização. Uma imagem invertida da retina é formada sobre o plano focal desta lente. O efeito binocular é obtido através de espelhos ou prismas como pode se observar pela figura 2.4 [4].

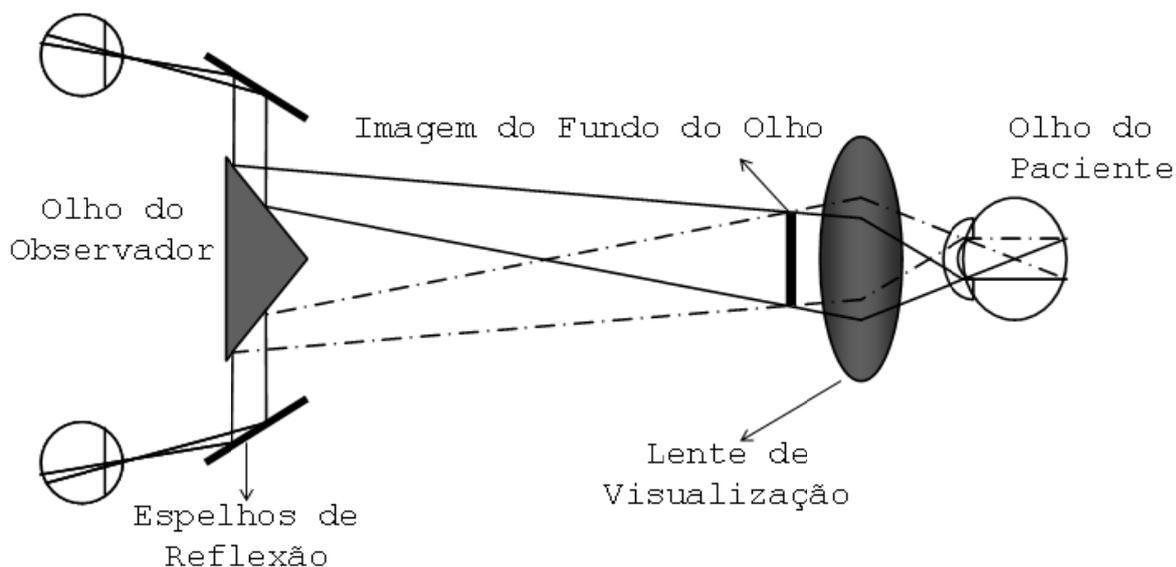


Figura 2.4 - Diagrama óptico do oftalmoscópio binocular indireto [4].

A magnificação lateral num oftalmoscópio indireto é uma função do poder focal da lente de visualização e o poder focal do olho do paciente (60 D). Portanto, uma lente de 20 D produz uma magnificação de 3 vezes ($60/20 = 3$) e uma de 30 D produz

magnificação de 2 vezes ($60/30 = 2$). Nos oftalmoscópios indiretos é usual reduzir a distância interpupilar de 60 mm para 15 mm por meio de prismas ou espelhos e a estereoscopia é reduzida de um fator de 4^[4]. A figura 2.5 ilustra este efeito.

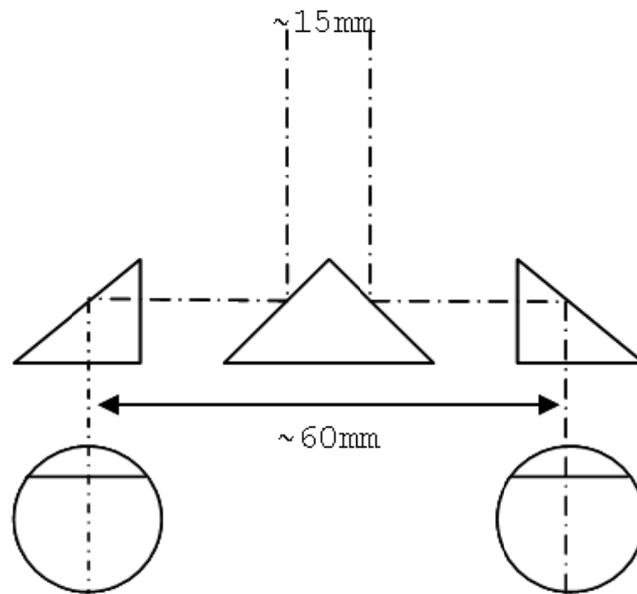


Figura 2.5 - Prisma binocular que estreita opticamente a distância pupilar a 15 mm^[4].

É essencial que a aberração esférica seja evitada pela lente de visualização. Por esta razão, estas lentes não apresentam superfícies esféricas, elas apresentam características cônicas. Este tipo de lente permite ainda um campo de visualização maior do que as lentes esféricas de mesma distância focal. Em algumas versões do oftalmoscópio indireto é possível o registro de imagens do fundo do olho através de uma câmera acoplada. Além disso, é possível a mudança da cor do feixe de luz branco através de dois filtros, que permitem a visualização da imagem no verde e no azul (figura 2.6).

visualização da imagem no verde e no azul (figura 2.6).

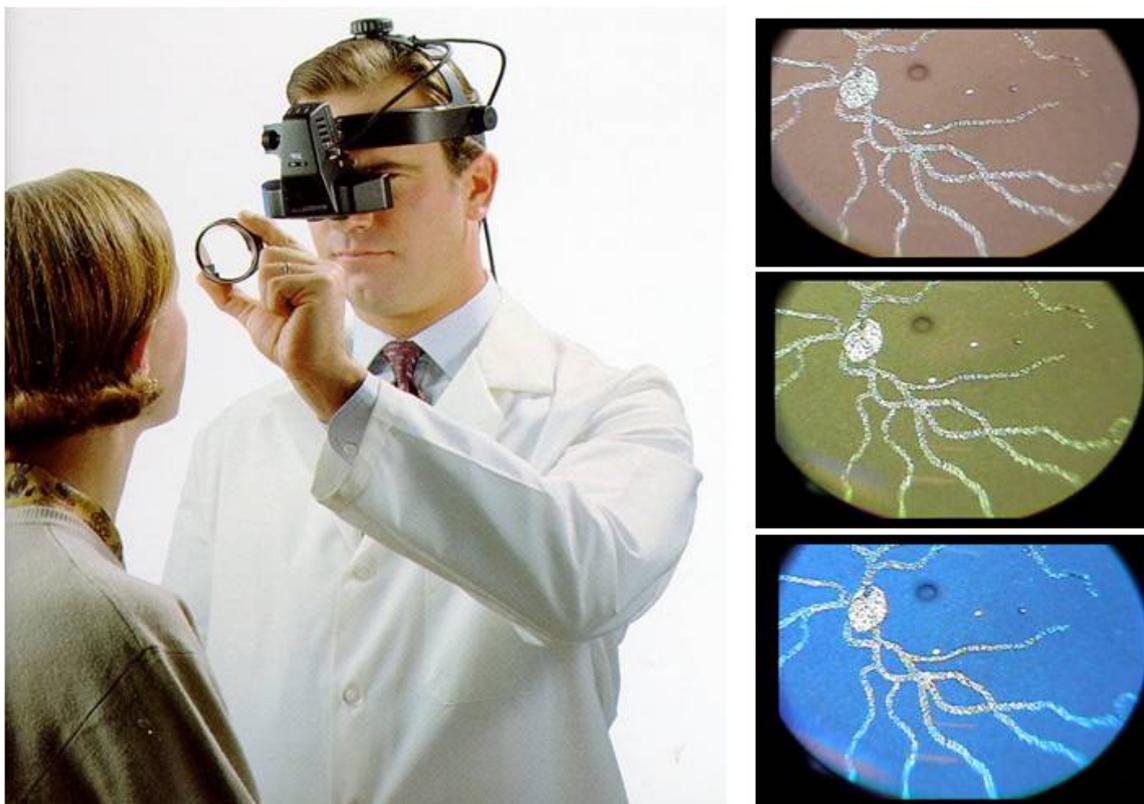


Figura 2.6 - Oftalmoscópio indireto sendo operado por um médico (esq.), e imagens de uma retina artificial capturadas por um oftalmoscópio com câmera de vídeo acoplada (dir.).

2.2 Retinografia

A retinografia é um exame efetuado com a ajuda de um aparelho denominado Retinógrafo. O Retinógrafo permite realizar diagnóstico e análises de anomalias presentes na retina, através de uma seqüência de imagens obtidas do fundo do olho do paciente, após a aplicação de uma substância na corrente sanguínea, denominada fluoresceína. O princípio básico do retinógrafo é a aplicação do fenômeno da fluorescência para a visualização das anomalias na seqüência de imagens. A fluorescência ocorre quando a energia luminosa da luz que ilumina o tecido é absorvida por biomoléculas que passam a um estado energético maior. A tendência da biomolécula é retornar ao estado fundamental, ou seja de menor energia. A liberação desse excesso de energia pode ocorrer por fenômenos de vibração (não-radiativo), mas também resultar na emissão de fótons, i.e fluorescência^[16]. O exame realizado com o retinógrafo é denominado de angiografia fluoresceínica e uma de suas aplicações reside na análise hemodinâmica dos fluxos coroídeo, retiniano e papilar, verificação do estado

do epitélio pigmentar, localização e diagnóstico de focos e anomalias da fluorescência normal. A fluoresceína emite fluorescência, quando uma molécula exposta à luz de baixo comprimento de onda libera energia radiante com comprimento de onda maior, sob forma de luz visível. Quando a fluoresceína absorve a luz na faixa de 480 a 510 nm, sua molécula se instabiliza por elevação do nível energético de seus elétrons. Na reestabilização dos elétrons ao nível energético prévio, ocorre liberação de energia luminosa com comprimento de onda entre 510 a 530 nm ^[4]. A captura da imagem da retina é realizada quando ocorre esta liberação de energia por fluorescência. A fluoresceína deve ser injetada rapidamente por meio de uma veia periférica, para obter-se uma boa qualidade de imagem nas fotos.

O princípio de funcionamento do retinógrafo é baseado em dois filtros: o excitador e o de barreira. O excitador localiza-se próximo a fonte de iluminação, excitando a fluoresceína na faixa de 480 a 510 nm. O filtro barreira permite somente a passagem da luz na faixa de 510 a 530 nm. A combinação de filtros deve ser ideal, de maneira que haja apenas a captação da fluorescência na faixa de 510 nm a 530 nm, evitando-se assim os fenômenos de pseudofluorescência. Os Retinógrafos tradicionais são conectados a uma câmera fotográfica para realizar a captura da imagem, que exige técnicas especiais de revelação de filmes. A montagem do exame revelado deve ser feita de maneira que em determinadas patologias consiga-se visão estereoscópica e seqüencial de toda a alteração, facilitando o diagnóstico e o tratamento. As primeiras fotografias são reveladas para imagens padrões (“red free”), isto é, uma foto de cada olho obtida com luz no comprimento de onda selecionado (verde), sem o uso de filtro de barreira. A figura 2.7 ilustra um típico exame de angiografia fluoresceínica. Com a percepção da chegada da fluoresceína, inicia-se uma seqüência de fotografias com intervalo de 1 segundo, até a fase venosa precoce, quando se espaça o intervalo de acordo com a situação. Geralmente, as primeiras imagens são da área macular e ou pupilar, ou da zona que tenha motivado o exame. Aproveita-se a primeira seqüência de fotos para a obtenção do primeiro par em estéreo (sem fluoresceína e sem filtros de luz). Nos diabéticos, ou nos pacientes com vasculopatias generalizadas, as fases subseqüentes consideradas são as regiões nasal superior e inferior e temporal superior e inferior, nesta ordem até o disco. O segundo par em estéreo costuma ser obtido após as tomadas. Na média, o exame dura de 5 a 10 minutos ^[4].

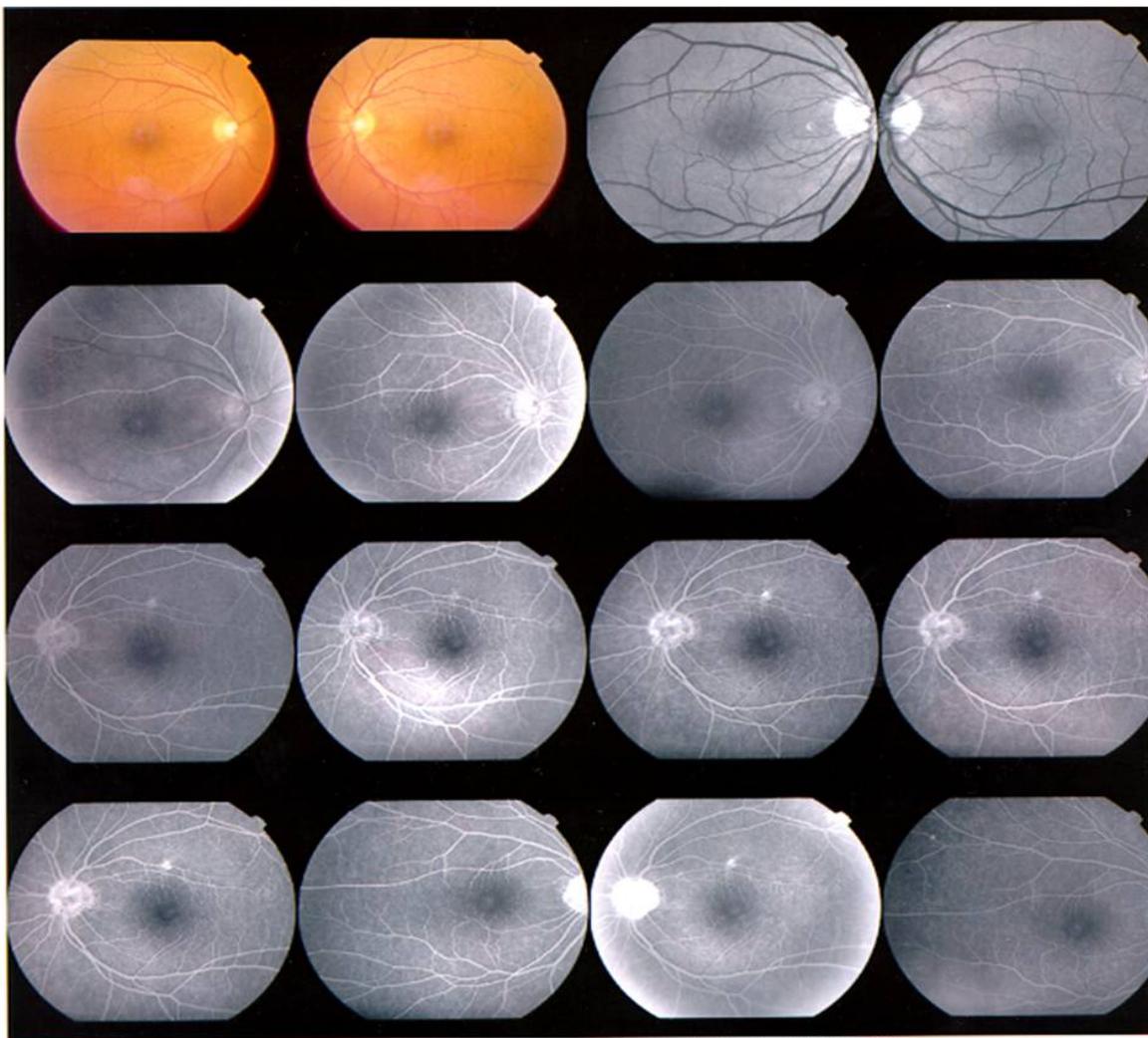


Figura 2.7 - Exame de angiografia fluoresceínica [4].

O retinógrafo opera sob o mesmo princípio do oftalmoscópio indireto (Seção 2.1). O caminho óptico da iluminação e da observação passa por diferentes porções da pupila do paciente, para se evitar reflexões pela córnea e pelas superfícies da lente cristalina [1]. Uma imagem do fundo do olho invertida é formada no ponto F pela lente L_3 , esta imagem passa a ser objeto para a lente L_4 , e esta, forma a imagem no plano do filme (figura 2.8). O retinógrafo é composto basicamente por quatro partes ópticas principais: sistema óptico de iluminação, de captura, de aquisição e de observação da imagem. A fonte de luz e as lentes L_1 e L_2 representam o sistema de iluminação, que através do espelho M e da lente L_3 focalizam um anel iluminado na córnea do paciente. O anel está localizado no diafragma de abertura do sistema de iluminação, cuja função é iluminar o fundo do olho por espalhamento de luz através dos meios ópticos que constituem o olho. A imagem da retina é capturada pelas lentes L_3 e L_4 . Os raios oriundos da retina passam por meio do espelho

M, que possui um furo para permitir a passagem dos raios que formam a imagem sobre uma câmera fotográfica de 35 mm ^[4].

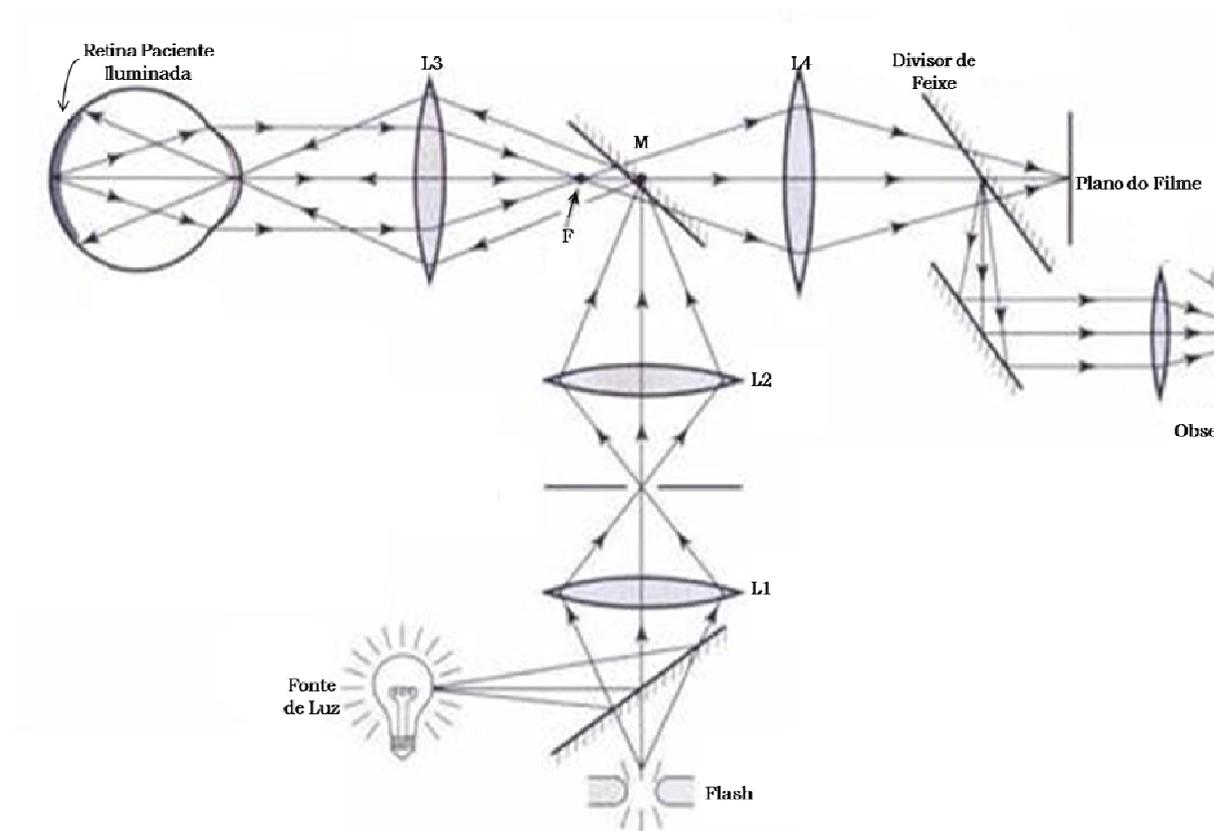


Figura 2.8 - Diagrama óptico ilustrando o sistema de iluminação, o sistema de observação e o sistema de captura de imagem em um retinógrafo ^[4].

A parte óptica do sistema de iluminação é responsável pela formação do anel uniformemente iluminado na córnea do paciente, este anel por sua vez é responsável por iluminar o fundo do olho, de maneira que a imagem obtida da retina é formada pelos raios que passam internamente ao anel e sendo capturada pelo sistema óptico de aquisição de imagem. Esta técnica pode ser visualizada pela figura 2.9.

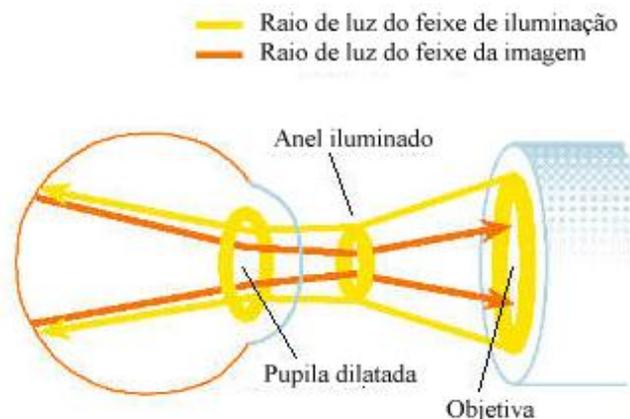


Figura 2.9 - Técnica de iluminação do fundo do olho ^[4].

Existem duas técnicas de obtenção de imagens com o retinógrafo. A técnica convencional, por revelação fotográfica, exige algumas características técnicas específicas tais como: tipo de filme, tempo de revelação e poder do “flash”. Quanto menor o poder do “flash” e mais longo o tempo de revelação, maior será o contraste. Por outro lado, quanto maior o contraste, menor a resolução. Após revelado, pode-se obter os positivos ou “slides”. A outra técnica utiliza captura de imagem digital, eliminando a técnica convencional fotográfica, revelação de filmes e montagem de seqüência de fotos. O exame passa a ser obtido em forma de vídeo, com captura de imagem contínua e dinâmica com alta resolução, proporcionando um exame angiográfico em tempo real e um sistema de arquivo eficiente em forma de banco de dados. Além do exame de angiografia fluoresceínica, pode se realizar também a retinografia colorida e o exame “red free”. Neste tipo de exame, a imagem da retina está livre da banda vermelha do espectro de radiação, o que permite melhor contraste na imagem retiniana capturada. Isto pode ser realizado utilizando um filtro verde como filtro excitador. Estas imagens são capturadas via câmera de alta resolução, cujo comando de aquisição e arquivamento é realizado através do “hardware” e “software” dedicados para esta específica finalidade ^[4]. A figura 2.10, é um exemplo de imagens obtidas pela retinografia digital.

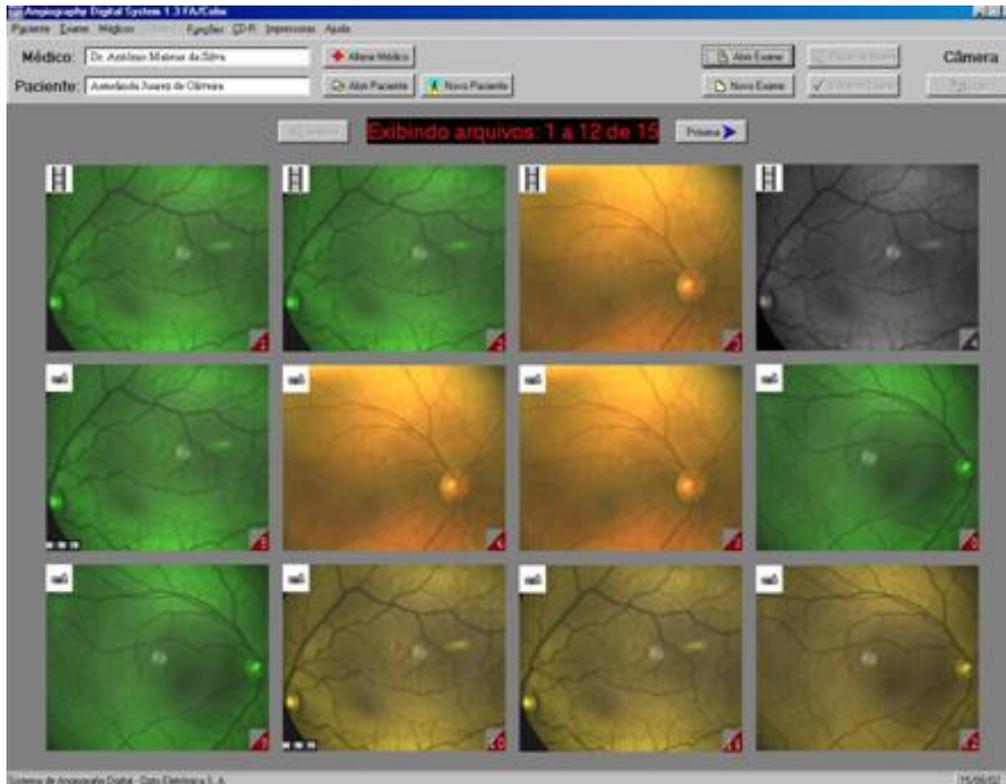


Figura 2.10 - Imagens obtidas em exame de retinografia digital cedidas pela empresa Ópto Eletrônica^[25].

Neste capítulo se apresentou os principais equipamentos médicos utilizados em oftalmologia para visualização do segmento posterior do olho humano. Esses equipamentos atendem a necessidades específicas de exames e pacientes. O exame de retinopatia da prematuridade, por exemplo, só pode ser realizado com o oftalmoscópio indireto, devido a impossibilidade de uma criança recém nascida realizar um exame sentada. Os exames executados com o retinógrafo (Retinografia, Red Free, Angiografia Fluoresceínica), são realizados para a detecção de doenças mais graves de retina que para serem corretamente diagnosticadas necessitam de uma imagem de alta resolução e excelente qualidade. No próximo capítulo serão introduzidos alguns conceitos relacionados aos modelos de representação de cores e como eles auxiliarão na elaboração do sistema de iluminação cromático, utilizado neste trabalho para iluminação do fundo do olho. Também serão relatados alguns trabalhos que aplicam com sucesso técnicas de cromaticidade para realce de contraste em tecidos biológicos.

Modelos de Representação de Cores e Contraste Cromático.

No estudo da percepção da cor, uma das primeiras definições para o espaço de cores foi o CIE XYZ (conhecido como CIE 1931 color space), criado pela comissão internacional de cores, CIE XYZ é a base para todo sistema gerenciador de cores. Este espaço de cores possui todas as cores perceptíveis pelo olho humano.

O diagrama bidimensional de cromaticidade xyY, exibe uma projeção especial no plano xy do espaço XYZ (figura 3.1) ^[5].

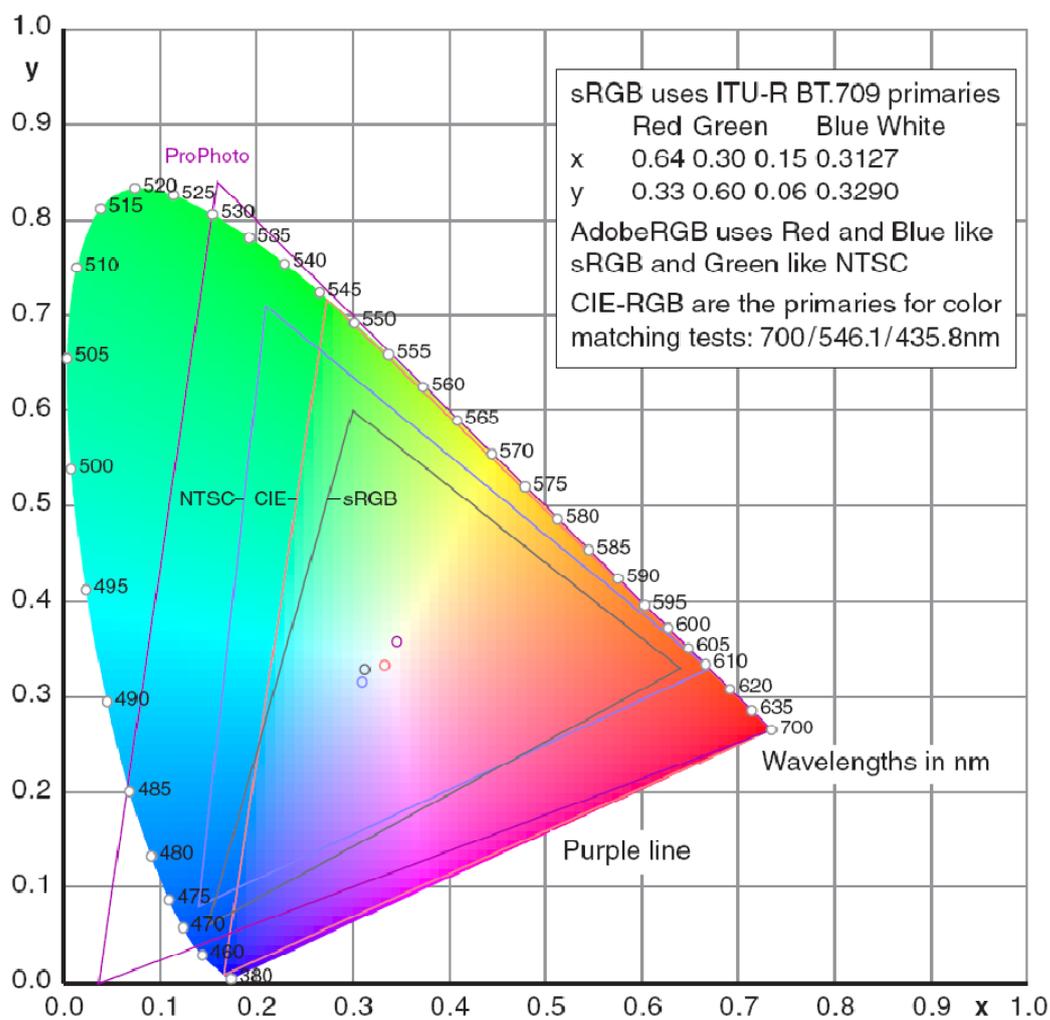


Figura 3.1 - Espaço de cores XYZ ^[5].

Pelo fato deste trabalho ter como proposta, um equipamento com sistema de

iluminação baseado no sistema de cores RGB, cujo objetivo é produzir efeito de contraste cromático no fundo do olho, este capítulo abordará as variações do espaço de cores padrão e citará alguns trabalhos nos quais resultados positivos foram alcançados com a aplicação da cromaticidade em tecidos vivos.

3.1 Cores perceptíveis ao olho humano.

A teoria da percepção cromática pelo olho humano baseia-se em hipótese formulada por Young em 1801, que estabelece que os cones, juntamente com os bastonetes (capítulo 2), se subdividem em três classes com diferentes máximos de sensibilidade situados em torno do vermelho(R), verde(G) e azul(B) ^[6]. Desta forma, todas as sensações de cores percebidas pelo olho humano são na verdade combinações das intensidades dos estímulos recebidos por cada um destes tipos de cones. Estas três cores são denominadas cores primárias aditivas, pois é possível obter qualquer outra cor a partir da combinação de cada uma delas em diferentes proporções. Para efeito de padronização, os seguintes comprimentos de onda foram atribuídos a estas cores primárias: azul = 435 nm; verde = 546 nm; vermelho = 700 nm ^[6]. A figura 3.2, está ilustrando a região visível do espectro, que compreende os comprimentos de onda entre 400 a 800 nm.

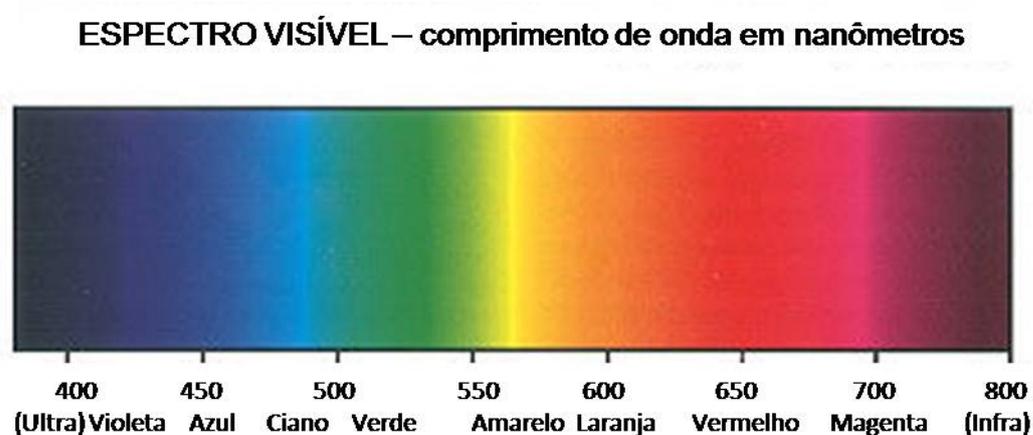


Figura 3.2 - Região visível do espectro situado no intervalo de 400 a 800 nm.

As combinações de cores consideradas até o momento pressupõem a emissão de radiações coloridas situadas na região visível do espectro, as quais combinadas aditivamente produzem um efeito final correspondente à soma dos efeitos individuais ^[6]. As cores primárias podem ser adicionadas para produzir cores secundárias de luz - magenta (vermelho + azul), ciano(verde + azul), e amarelo(vermelho + verde) ^[8]. A

mistura das três cores primárias ou de uma secundária com sua cor primária 'oposta' produz a luz branca, como ilustra a figura 3.3.

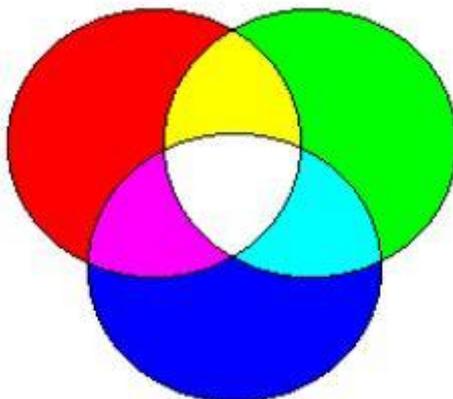


Figura 3.3 - Três cores primárias e suas combinações para produzir cores secundárias.

Existem três características normalmente utilizadas para distinguir as cores entre si que são: brilho (B - Brightness), matiz (H - Hue) e saturação (S - Saturation). O brilho representa a noção de intensidade luminosa da radiação, o matiz é uma propriedade associada ao comprimento de onda predominante na combinação das várias ondas visíveis, enquanto a saturação expressa a pureza do matiz ou, em outras palavras, o grau de mistura do matiz original com a luz branca ^[6]. Cores como o rosa e o vermelho, por exemplo, têm o mesmo matiz, mas apresentam diferentes graus de saturação.

O matiz e a saturação costumam ser denominados conjuntamente de cromaticidade, desta forma, é possível afirmar que uma cor pode ser definida pelo seu brilho e por sua cromaticidade. Os percentuais de vermelho, verde e azul presentes em uma cor, recebem o nome de coeficientes tri cromáticos e são dados pelas equações:

$$r = R/R+G+B;$$

$$g = G/R+G+B;$$

$$b = B/R+G+B;$$

onde R, G e B representam a quantidade de luz vermelha, verde e azul, respectivamente, normalizada entre 0 e 1. Logo, a soma dos três coeficientes tri cromáticos é:

$$r + g + b = 1;$$

Os coeficientes tri cromáticos exatos de cada cor são computados a partir do diagrama de cromaticidade definido pelo CIE (Comission Internationale de J'Eclairage – Comissão Internacional de Iluminação).

3.2 Modelos de Cores

Os modelos ou espaços de cores permitem a especificação de cores em um formato padronizado para atender a diferentes dispositivos gráficos ou aplicações que requerem a manipulação de cores^[7]. Os modelos de cores mais comuns usados são o modelo RGB (red, green, blue), modelo para monitores e câmeras de vídeo; o CMY (ciano, magenta, yellow) usado para impressoras coloridas, modelo YIQ, que é o padrão utilizado em transmissões de TV em cores e HSI (hue, saturation, intensity), às vezes também denominado HSV (hue, saturation, value). Como neste trabalho serão estudadas imagens capturadas por uma câmera de vídeo, será dada ênfase somente aos modelos que se adaptam melhor ao propósito, que são os modelos RGB e HSI.

3.2.1 Modelo RGB e HSI

Modelo RGB

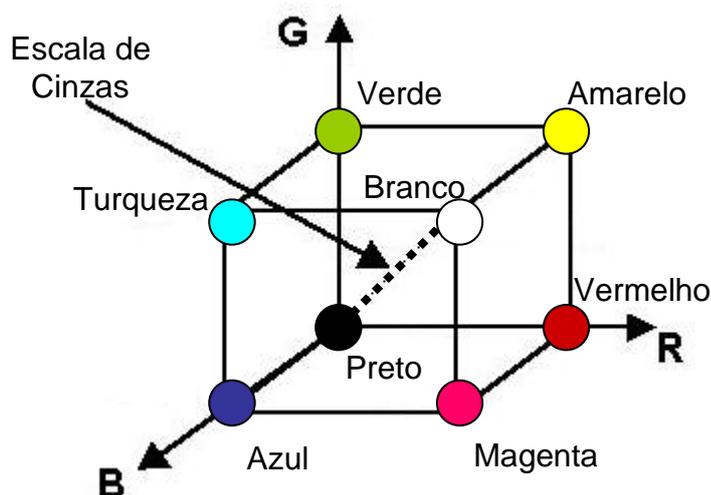


Figura 3.4 - Modelo RGB de representação de cores ^[6].

O modelo RGB foi criado baseado nas propriedades da luz existente na natureza. É representado em um sistema de coordenadas cartesianas, que pode ser visto como um cubo onde três de seus vértices são as cores primárias, outros três as cores secundárias, o vértice

junto à origem é o preto e o mais afastado da origem corresponde à cor branca, conforme ilustra a figura 3.4. Neste modelo, a escala de cinza se estende através de uma linha (a diagonal do cubo) que sai da origem (preto) até o vértice mais distante dela (branco) ^[6]. Por conveniência, geralmente assume-se que os valores máximos de RGB estão normalizados na faixa de 0 a 1.

Modelo HSI

O modelo HSI, permite separar as componentes de matiz, saturação e intensidade da informação de cor em uma imagem, da forma como o ser humano percebe. Sua utilização é mais intensa em sistemas de visão artificial fortemente baseados no modelo de percepção de cor pelo ser humano, como por exemplo, um sistema automatizado de colheita de frutas, em que é preciso determinar se a fruta está suficientemente madura para ser colhida a partir de sua coloração externa. Geometricamente, o modelo HSI pode ser visto como um sólido (figura 3.5) nos quais os vértices contêm as cores primárias e o centro corresponde à combinação destas cores em iguais proporções. Esta combinação estará mais próxima do preto ou do branco, conforme a altura em que o corte tenha sido efetuado.

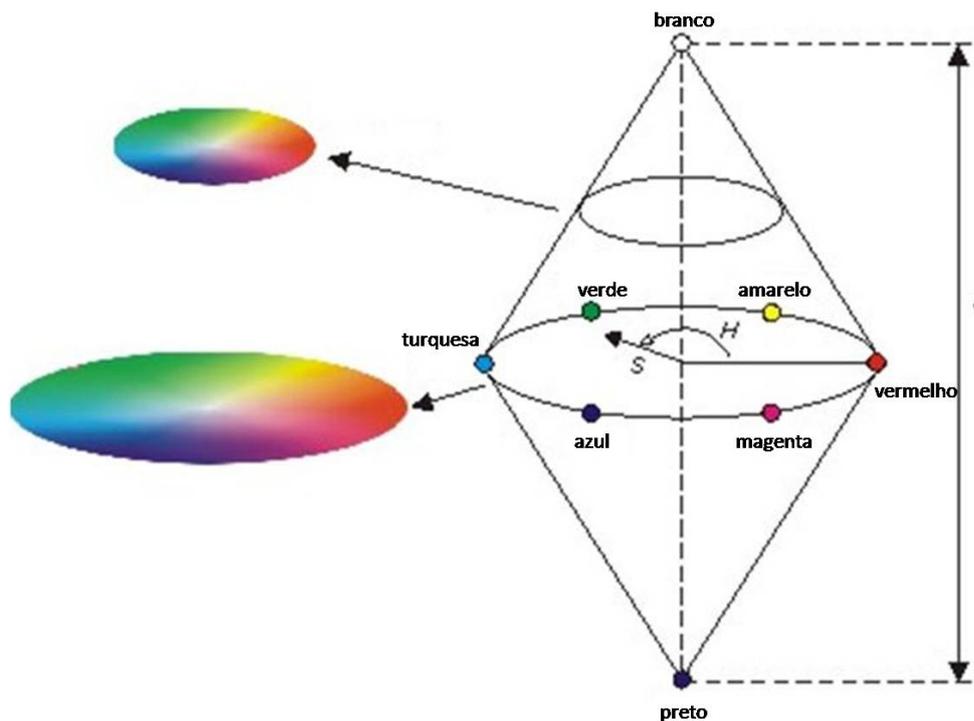


Figura 3.5 - Modelo HSI ^[6].

3.3 Contraste Cromático em Tecidos Vivos

Existem muitos estudos já realizados onde são feitas análises de propriedades ópticas de diferentes estruturas morfológicas de tecidos vivos. Em dermatologia, um

estudo realizado pela escola de Ciência da Computação da Universidade de Birmigham, mostra um modelo físico implementado em computador, que foi elaborado estudando-se as alterações espectrais ocorridas pela luz refletida pela pele humana ao ser iluminada. O modelo é capaz de identificar todos os padrões de respostas ópticas da pele humana saudável independente de raça, idade e sexo e acusar regiões onde tais padrões de coloração fogem da normalidade ^[9]. Tal técnica tem sido aplicada com sucesso na análise de imagens de lesões da pele pigmentadas (figura 3.6).

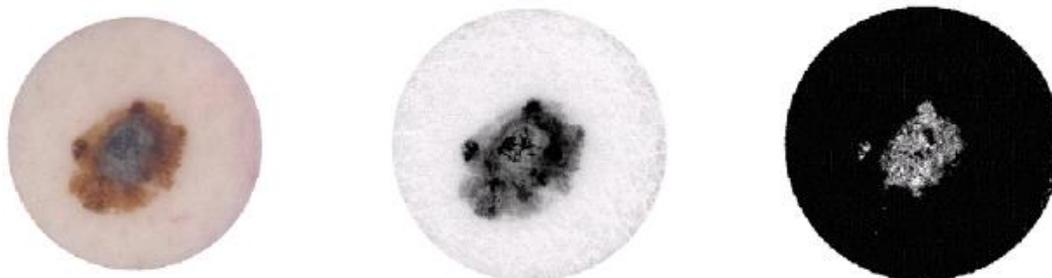


Figura 3.6 - Lesões de pele visualizadas com diferentes contrastes ^[9].

Utilizando os mesmos princípios do trabalho anteriormente citado, um estudo relacionado à oftalmologia utilizou um modelo computacional capaz de prever a coloração relacionada aos tecidos saudáveis que constituem o fundo do olho ^[10]. Ao analisar imagens digitalizadas do pólo posterior, o computador pode indicar variações de coloração fora dos padrões pré-programados em sua base de informações. O modelo apresentado obteve bons resultados na detecção de sintomas de retinopatia diabética.

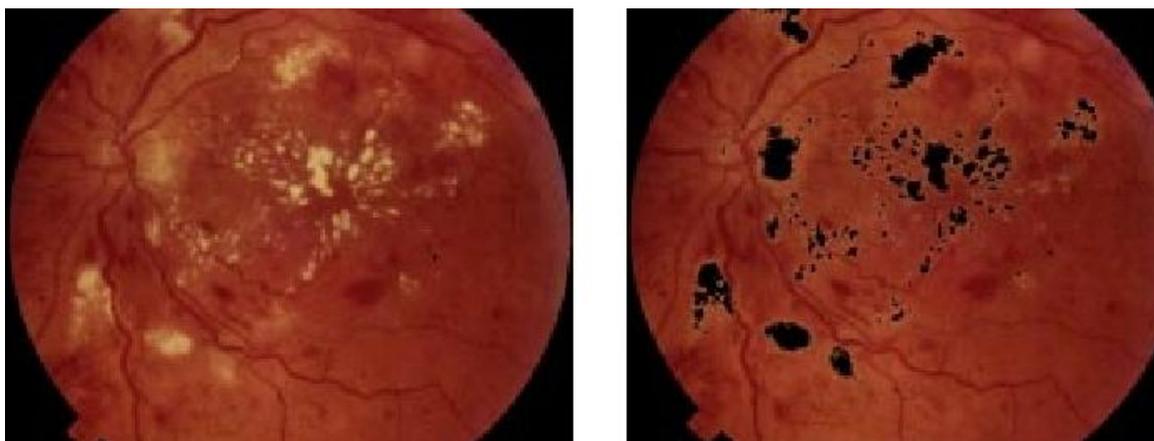


Figura 3.7 - Detecção de retinopatia diabética através de análise computacional ^[10].

Em tecidos biológicos, cores frequentemente melhoram a interação entre a luz, a superfície e o interior de um objeto. Estas interações (absorção, dispersão, refração) alteram a composição espectral da luz emergente, modificando a imagem observada de acordo com a morfologia e propriedades ópticas das substâncias e estruturas presentes no

tecido ^[9]. Então a luz que é refletida ou que atravessa o tecido, carrega informações a respeito de sua constituição, propriedades ópticas, densidade, e geometria ^[9]. Variações na composição de cores da luz incidente podem então proporcionar uma maior percepção visual para diferenciação de estruturas orgânicas, desde que estas produzam diferentes respostas ópticas e por último alcance um contraste maior em torno das áreas observadas.

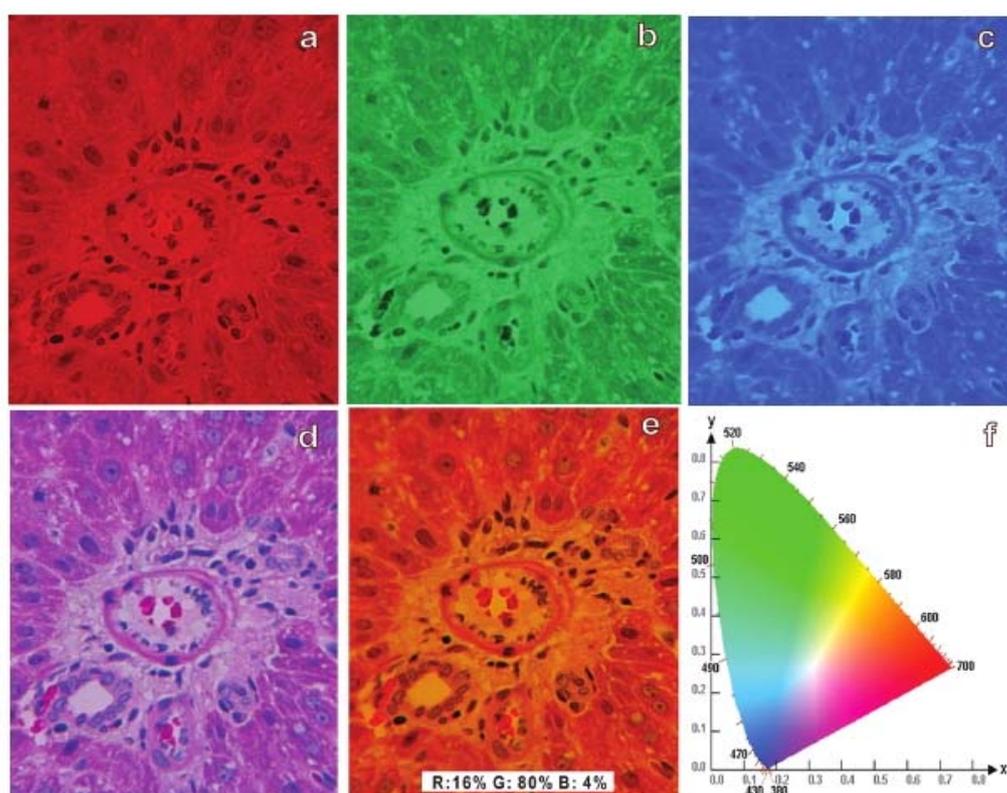


Figura 3.8 - Células do fígado de rato visualizadas com um microscópio com sistema de iluminação baseado no modelo RGB ^[11].

No Instituto de Física da USP de São Carlos, foi desenvolvido um sistema de iluminação RGB para um microscópio Carl Zeiss ^[11]. Este microscópio foi utilizado posteriormente na visualização de células do fígado de ratos (figura 3.8). O fígado, é de grande interesse em estudos bioquímicos e patológicos devido seu papel importante em muitas reações metabólicas ^[11]. Este órgão também abrange muitas outras organelas, bem como estruturas morfológicas formadas por hepatócitos e vasos sanguíneos. Cada um destes constituintes tende a absorver e refletir luz de um modo específico ^[12,13].

Trabalhos relacionados à medicina oftálmica utilizam técnicas de Retinografia colorida e Red Free, para realce de contraste em imagens de fundo de olho visando o estudo de patologias ^[14,15]. Em oftalmologia, o exame denominado Retinografia colorida

ilumina o pólo posterior com luz de comprimento de onda na região do visível do espectro e a imagem da retina pode ser capturada através de fotografia ou filmagem, dependendo do tipo de equipamento ^[16].

Algumas estruturas podem ser ressaltadas quando iluminadas com luz de comprimento de onda na região verde do espectro e esse tipo de Retinografia pode ser realizada com o equipamento utilizando uma fonte de luz emitindo apenas nessa região ^[16]. Neste tipo de exame, conhecido como Red Free, a imagem da retina está livre da banda vermelha do espectro de radiação, o que permite melhor contraste na imagem retiniana capturada ^[4]. A figura 3.9a ilustra uma imagem adquirida em um exame de Retinografia colorida e a figura 3.9b uma imagem Red Free.

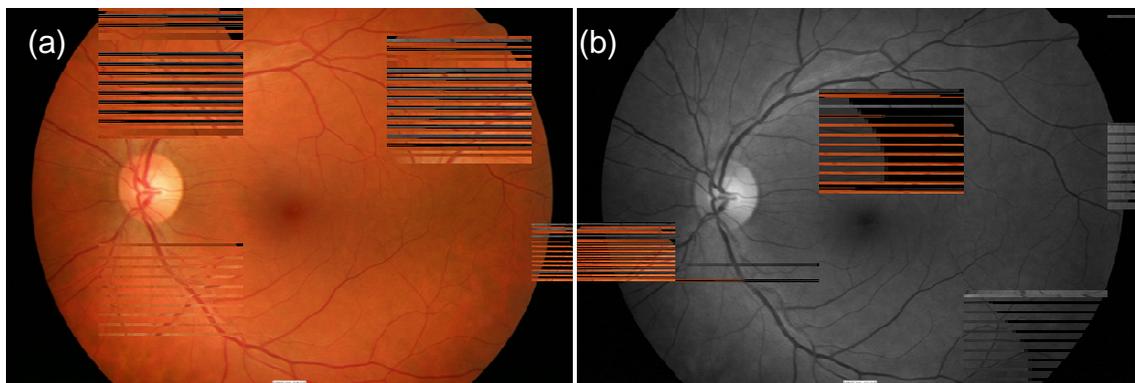


Figura 3.9 - Imagens do pólo posterior em exames de Retinografia colorida em (a) e Red Free em (b) ⁽¹⁶⁾.

O próximo capítulo apresentará o protótipo de testes em suas várias etapas de desenvolvimento e os resultados obtidos com imagens de fundo de olho sendo iluminado em diferenciados comprimentos de onda.

Sistema Eletrônico Cromático de Iluminação e Resultados de Testes.

Nos capítulos 1 e 2 foram abordados temas referentes à anatomia do olho humano, algumas patologias que podem afetar o segmento posterior, e qual o estado da arte em termos de exames para visualização da parte interna do globo ocular. Como neste trabalho propõe-se uma técnica inovadora de iluminação em exames de fundo de olho, no capítulo 3 foram introduzidos os modelos de representações de cores existentes. Também neste capítulo foram citados trabalhos científicos de áreas externas à oftalmologia que já fazem estudos focados em analisar realces de contraste através de técnicas de cromaticidade. A abordagem ao tema contraste cromático termina com a citação de exemplos do uso de cores na oftalmologia. Este capítulo será dedicado à apresentação de um novo sistema de iluminação cromático e demonstração de resultados obtidos em testes preliminares realizados em um olho mecânico artificial e outro real, onde uma retina humana saudável foi iluminada com diferentes comprimentos de onda para demonstração.

4.1 Construção do Protótipo.

Este trabalho apresenta um sistema eletrônico cromático de iluminação, cuja finalidade é proporcionar diferentes realces de contraste na visualização das estruturas que constituem o fundo ocular. Este sistema de iluminação foi adaptado em um oftalmoscópio binocular indireto de uso comercial fabricado pela empresa Eyetec. O equipamento teve seu sistema de iluminação original de fábrica, composto de uma fonte de luz branca alógena e filtros verde e azul, substituído pelo novo sistema de iluminação RGB baseado em super LEDs (do inglês; “Light Emitting Diode”) implementados neste projeto. A característica principal deste equipamento está em sua flexibilidade de “varrer” todo o espectro situado na região do visível. A composição do feixe de luz colorido é processada através da combinação das luzes de LEDs de alta intensidade nas cores vermelha, verde e azul, acoplados em um sistema de lentes e espelhos dicróicos. Um espelho dicróico (di = dois, cróico = cor) é um tipo de espelho que possui a propriedade de separar a luz

conforme determinadas cores. O comprimento de onda específico é refletido enquanto todos os outros o atravessam. Para o compositor cromático deste trabalho três espelhos refletem respectivamente nos comprimentos de onda do vermelho, verde e azul, deixando passar o restante das cores. As lentes produzem feixes de luz divergentes que são sobrepostos através do alinhamento dos espelhos. Uma interface eletrônica configurada para fornecer tensões diferentes para cada LED permite o ajuste individual de intensidade luminosa. Esta característica é o que possibilita a varredura do espectro visível em diferentes tonalidades de cor.

As figuras, 4.1 e 4.2 ilustram respectivamente a configuração do sistema de composição cromática e o primeiro protótipo para testes preliminares.

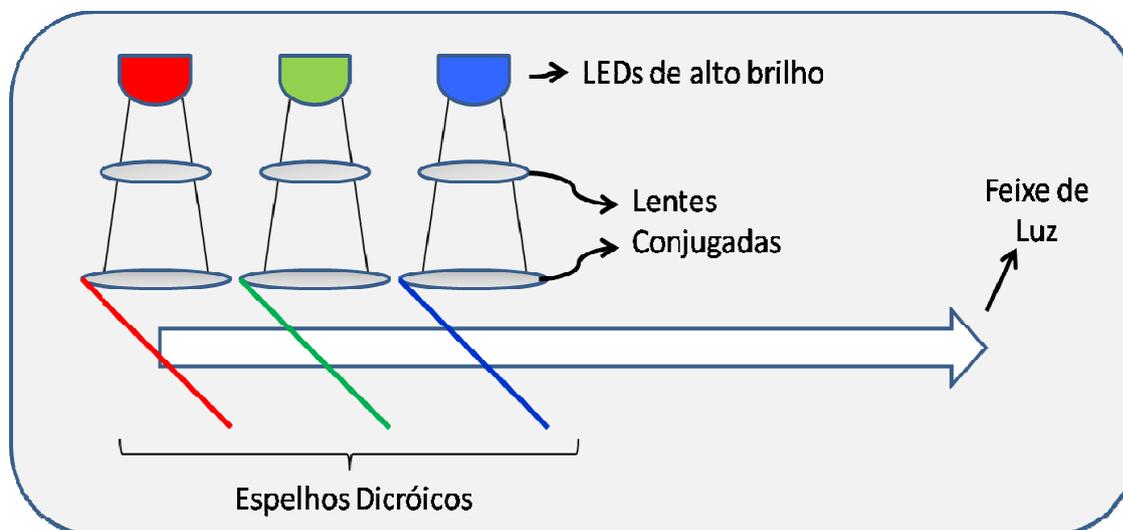


Figura 4.1 - Esquema de lentes e espelhos do sistema compositor de luz utilizando como base três fontes de luz nas cores vermelha, verde e azul.

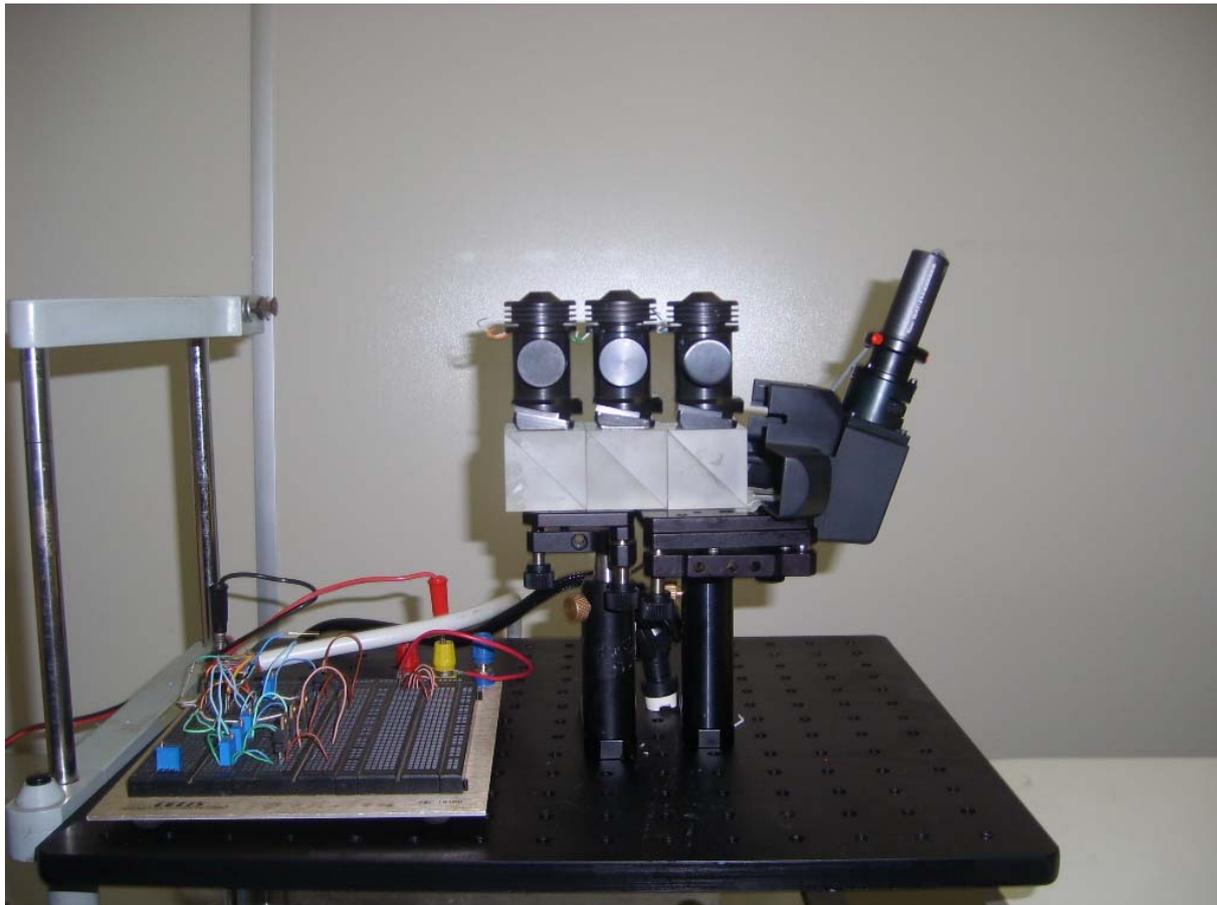


Figura 4.2 - Protótipo de bancada para testes de composição de luz colorida através de comando eletrônico.

4.2 Testes Preliminares e Resultados Finais.

Os testes realizados consistiram em três etapas:

- ➔ Testes de composição cromática e alinhamento dos feixes de luz;
- ➔ Testes de captura de imagens em olho mecânico artificial;
- ➔ Testes in vivo de uma retina humana saudável para estudo do comportamento do tecido vivo quando iluminado por diferentes comprimentos de ondas.

4.2.1 Composição Cromática.

A composição de cores diferentes usando fontes de luz nas cores vermelha, verde e azul, foi o primeiro desafio a ser superado neste trabalho. A figura 4.3, ilustra o protótipo de bancada realizando a composição cromática de luz em diferentes comprimentos de onda através de ajustes realizados na interface eletrônica. Neste primeiro protótipo foram utilizados beam splitters (divisores de feixe) 50/50 para direcionamento e mistura dos feixes de luz.

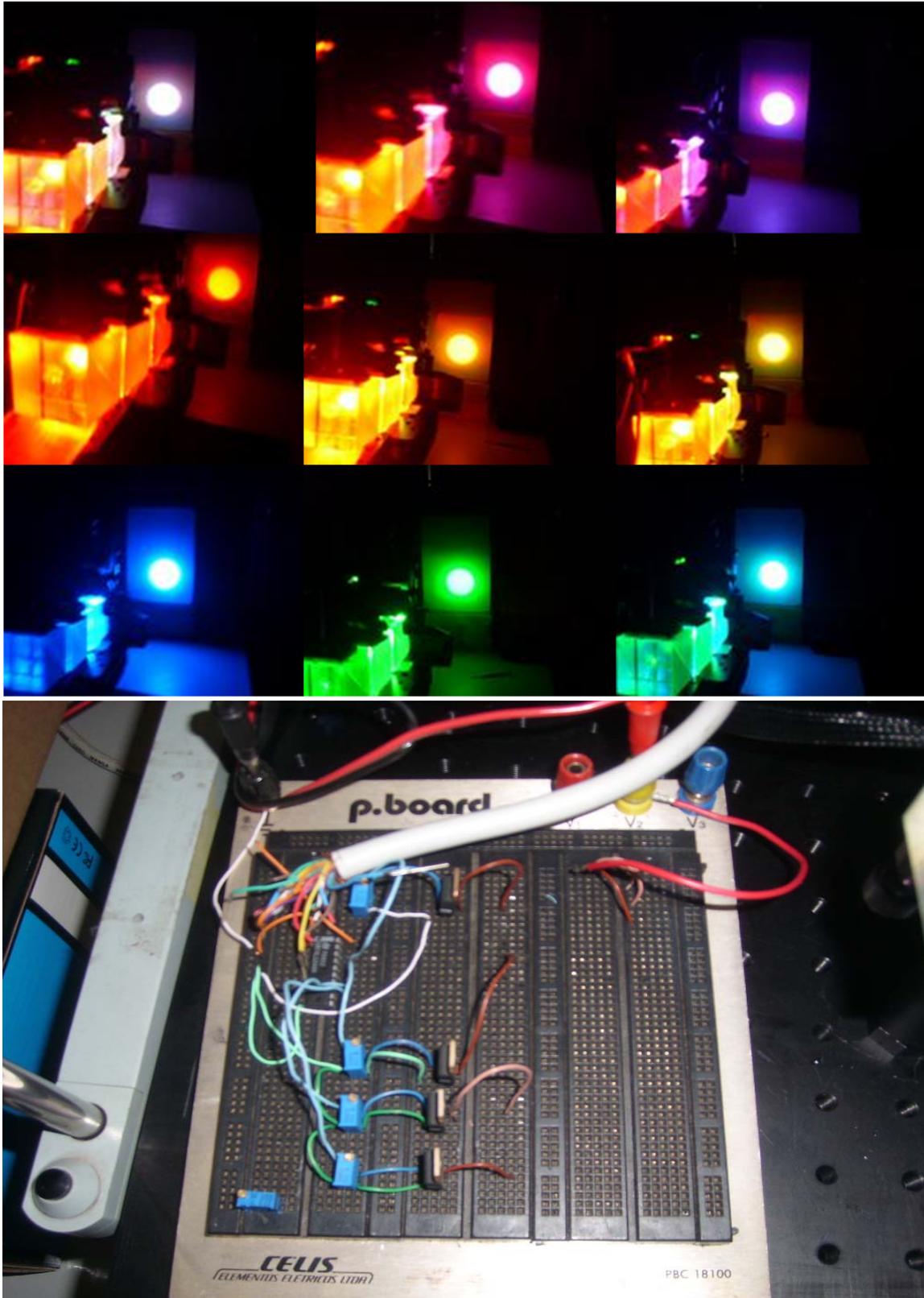


Figura 4.3 - Protótipo de bancada realizando primeiros testes de composição cromática com auxílio de uma interface eletrônica montada sob uma protoboard (placa de prototipação eletrônica).

Através de um software implementado para este primeiro teste, comandos

acionados via teclado, enviam um sinal pela porta paralela do computador e a cor correspondente é acionada. O controle de intensidade da luz emitida pelo protótipo é também controlada via software através da implementação de um algoritmo PWM (Pulse-width Modulation). Esta idéia inicial para o controle da intensidade das fontes de luz foi abandonada posteriormente por não permitir uma calibração satisfatória do equipamento.

4.2.2 Captura de imagens.

Finalizados os testes de composição cromática e constatada a possibilidade de se obter cores de luz em comprimentos de onda variados utilizando como base o modelo de representação de cores RGB, foram iniciados os primeiros testes de captura de imagens com o novo dispositivo de iluminação. Um sistema de captura de imagens próprio de oftalmoscópios indiretos foi adaptado ao protótipo, possibilitando o registro das imagens (figura 4.4).

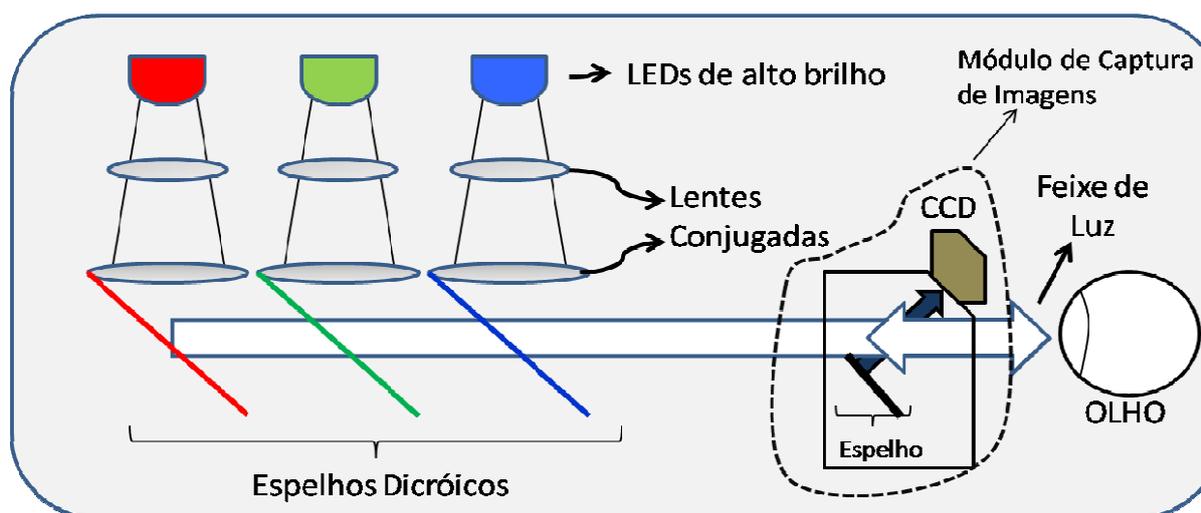


Figura 4.4: Sistema de captura de imagens. A luz que é emitida pelo sistema de iluminação atinge o fundo do olho do paciente e reflete deste na direção do sistema de captura de imagens. A imagem do fundo do olho é então detectada pela câmera ccd posicionada na extremidade do sistema.

Nesta etapa foi utilizado um olho mecânico artificial fabricado pela empresa Heine® – www.heine.com – e tem características semelhantes a um olho biológico, sendo um importante acessório para o aprendizado de médicos residentes com especialização em oftalmologia. As imagens ilustradas pela figura 4.5 mostram uma retina artificial sendo iluminada pelo sistema de emissão de luz cromática do protótipo de bancada. Os comprimentos de onda especificados na descrição da figura foram obtidos com o auxílio de um espectrofotômetro.

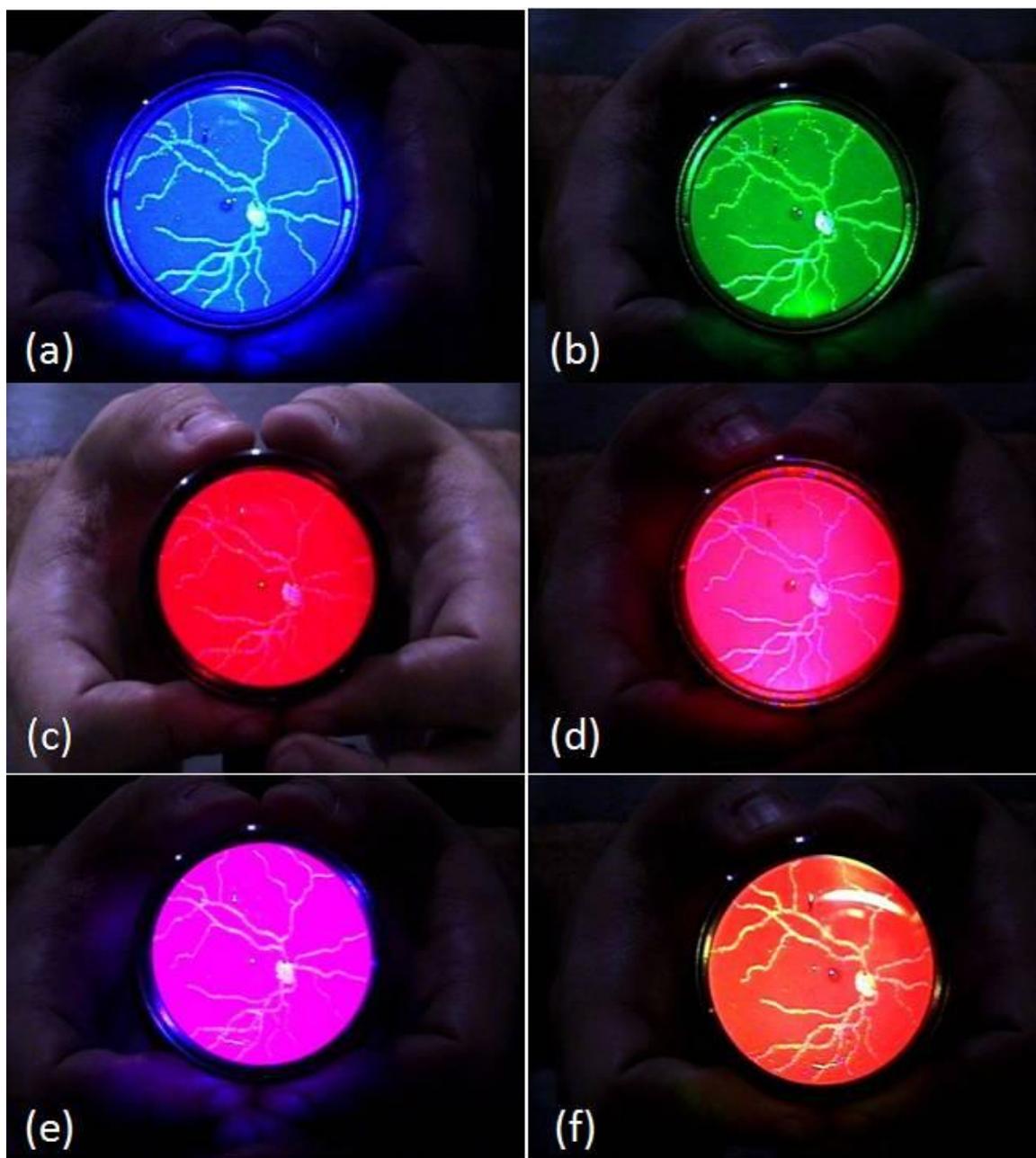


Figura 4.5 - Imagens da retina de um olho mecânico, simulando uma análise do olho biológico. As imagens foram capturadas pela câmera ccd (do inglês, “Charge Coupled Device”) colorida do oftalmoscópio indireto, enquanto o sistema cromático de iluminação emitia feixes de luz em: 462,6 nm (a), 523,3 nm (b), 637,3 (c), 462,6 nm (40%) e 637,3 nm (60%) em (d), 462,6 nm (60%) e 637,3 nm (40%) em (e), 523,3 (40%) e 637,3 nm (60%) em (f).

As imagens capturadas a partir do olho mecânico permitiram observar possíveis realces de contraste proporcionados pela iluminação cromática do instrumento de testes. Terminadas as duas etapas iniciais, onde se confirmaram as possibilidades de composição cromática de luz e realces diferenciados das imagens, o protótipo será aperfeiçoado para a

realização de testes *in vivo* para estudo do comportamento da luz colorida em um olho humano saudável.

4.2.3 Protótipo Final.

A fase três do projeto consiste em alterações estruturais do protótipo de bancada que permitam um primeiro ensaio de captura de imagens *in vivo* de uma retina humana saudável. A figura 4.6 mostra uma foto do protótipo aperfeiçoado para início de testes.

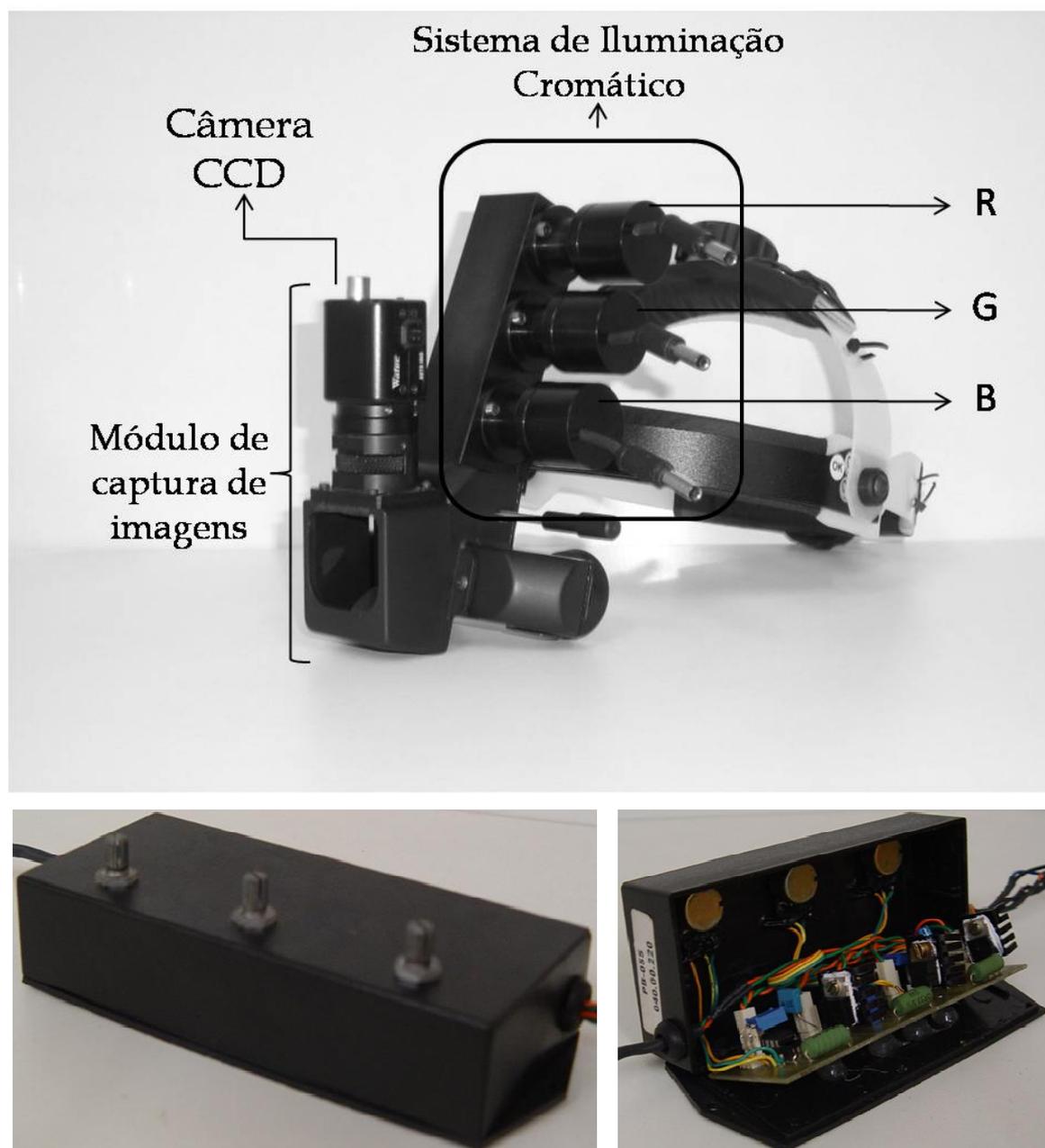


Figura 4.6 - Protótipo para testes e nova interface eletrônica elaborados para primeira bateria de testes simulando uma situação clínica real.

Para este novo modelo de instrumento uma interface eletrônica com ajuste manual de cores foi construída. Nesta nova interface as cores são configuradas através de potenciômetros que regulam a corrente de cada fonte de luz individualmente de acordo com o ajuste escolhido pelo usuário (figura 4.6). A figura 4.7 está ilustrando os testes de composição espectral com o novo protótipo. Neste instrumento o sistema de iluminação ganhou espelhos dicróicos que substituíram os beam splitters 50/50 usados no protótipo de bancada.

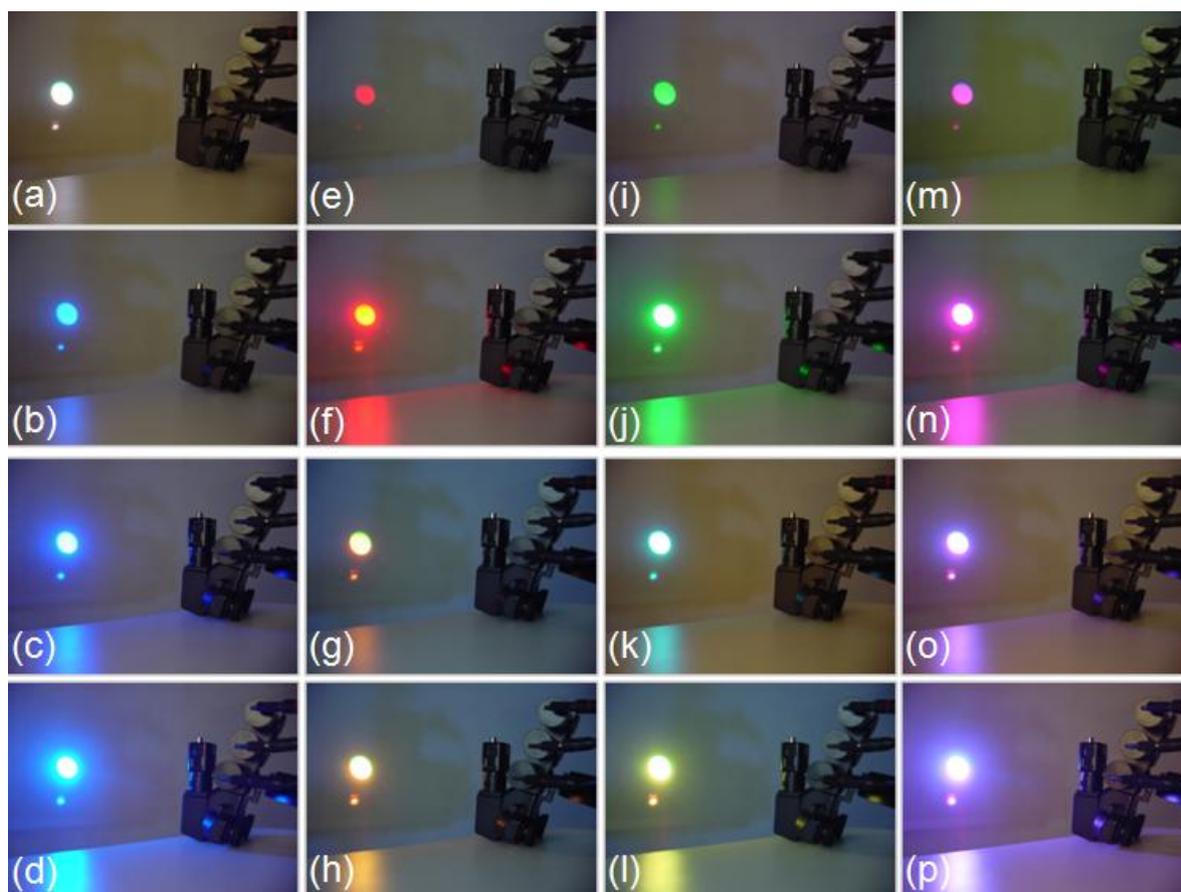


Figura 4.7 - Equipamento em funcionamento realizando a composição espectral: As cores observadas são obtidas através de diferentes configurações dos botões que regulam a tensão de cada LED através da interface eletrônica.

Os espelhos dicróicos como já citado na seção 4.1 refletem a luz em comprimentos de onda específicos. No caso do oftalmoscópio cromático três espelhos compõem o mecanismo que realiza a composição de cores. Um primeiro espelho que reflete no vermelho, um segundo que reflete no verde e permite a passagem do vermelho e um terceiro que reflete no azul e permite a passagem do vermelho e do verde. A adoção desta

nova tecnologia trouxe melhorias, pois tornou o instrumento menor, mais leve e com maior aproveitamento da luz emitida pelos LEDs de alto brilho. Um gráfico indicando a transmitância de cada espelho dicróico e de cada LED do sistema em sua respectiva faixa do espectro é exibido logo abaixo:

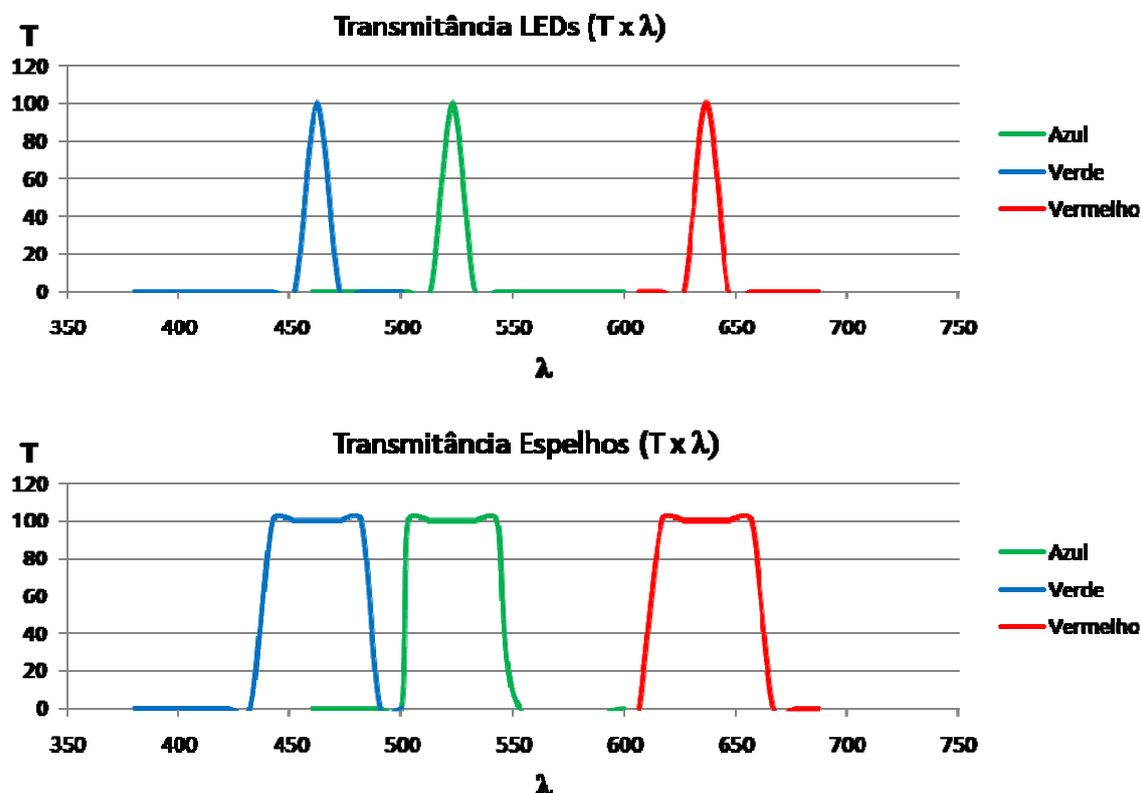


Figura 4.8 - Gráfico indicando a transmitância de cada espelho dicróico e de cada LED em sua respectiva faixa do espectro.

A nova configuração eletrônica permite que ajustes finos na regulação da configuração de cores sejam realizados. Todavia estes ajustes são demorados se levarmos em consideração o tempo de um exame desta natureza, além de exigir conhecimento de mistura de cores por conta do usuário que opera o sistema. Constatou-se também nesta nova versão do equipamento que a captura de imagens em um equipamento fixado na cabeça do operador compromete a qualidade das imagens e tornam o exame extremamente cansativo tanto para quem examina, como para quem é examinado. Estas desvantagens inviabilizariam a continuidade desta linha de pesquisa por dificultarem a operação do equipamento em uma situação clínica real. Tendo em vista estas considerações uma terceira e última versão do protótipo é apresentada. Nesta o equipamento foi fixado em uma mesa óptica, e uma interface eletrônica micro controlada foi construída. A figura 4.9

ilustra a nova configuração.

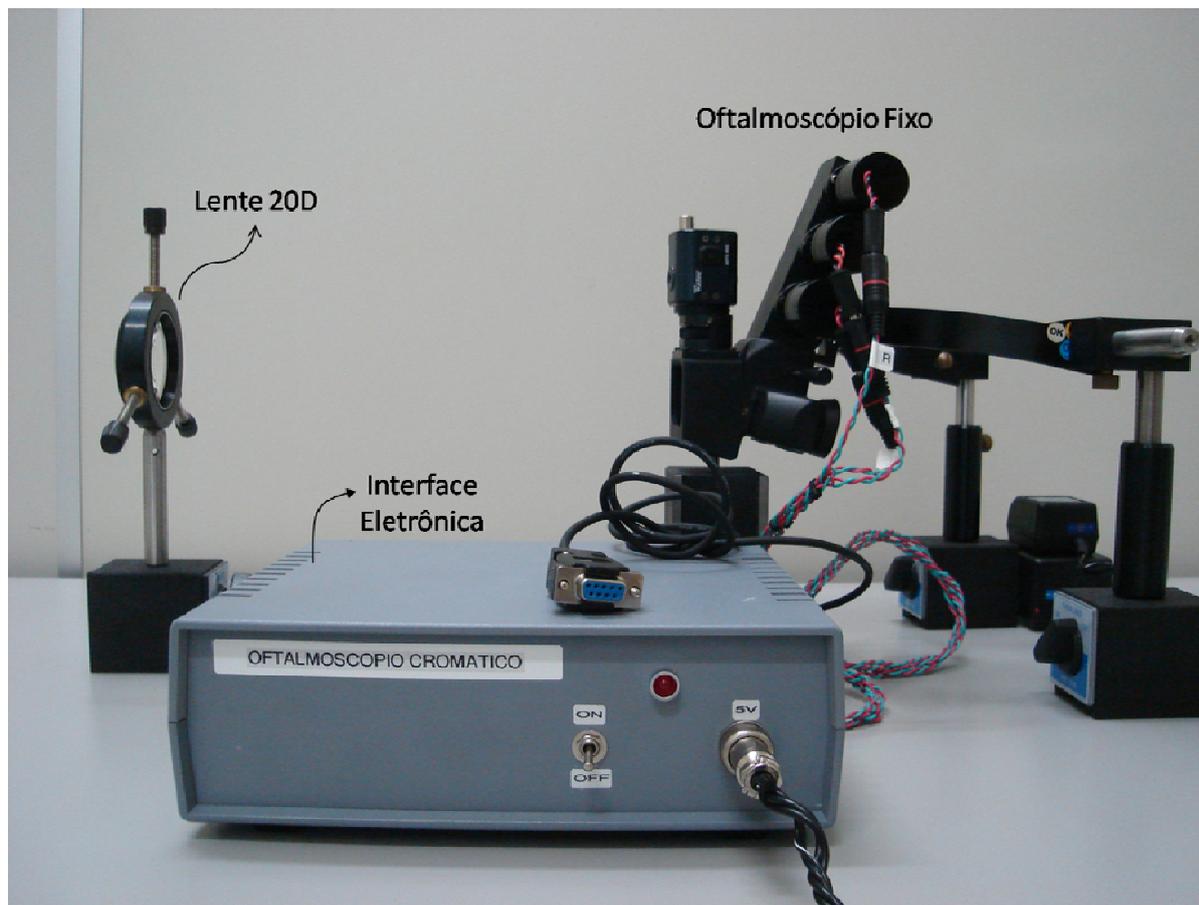


Figura 4.9 – Oftalmoscópio cromático fixo comandado por interface eletrônica micro controlada.

Nesta versão um software instalado em um computador pessoal comanda a interface eletrônica micro controlada via porta serial. Este software foi implementado utilizando a ferramenta de programação LabView, fabricada pela empresa National Instruments e funciona da seguinte forma:

Botões virtuais são acionados através de uma interface gráfica e enviam um código para o micro controlador, que identifica e aciona a função correspondente. Por exemplo, se o botão acionado faz referência à cor vermelha, um código numérico correspondente ao vermelho é enviado ao micro controlador que então aciona a cor vermelha. Se o botão de “+” é acionado o micro controlador decodifica o sinal e aumenta o nível de luz vermelha emitido pelo instrumento.

No mesmo tempo que o micro controlador aciona a cor vermelha, envia uma resposta ao software do computador informando em que nível de intensidade o/s LED/s

que configuram a respectiva cor foram acionados. Indicadores virtuais de intensidade são atualizados na interface gráfica do software do computador, mostrando o nível de intensidade do/s LED/s acionados para configuração da cor desejada. A figura 4.10 ilustra a interface do software que comanda o sistema eletrônico micro controlado.

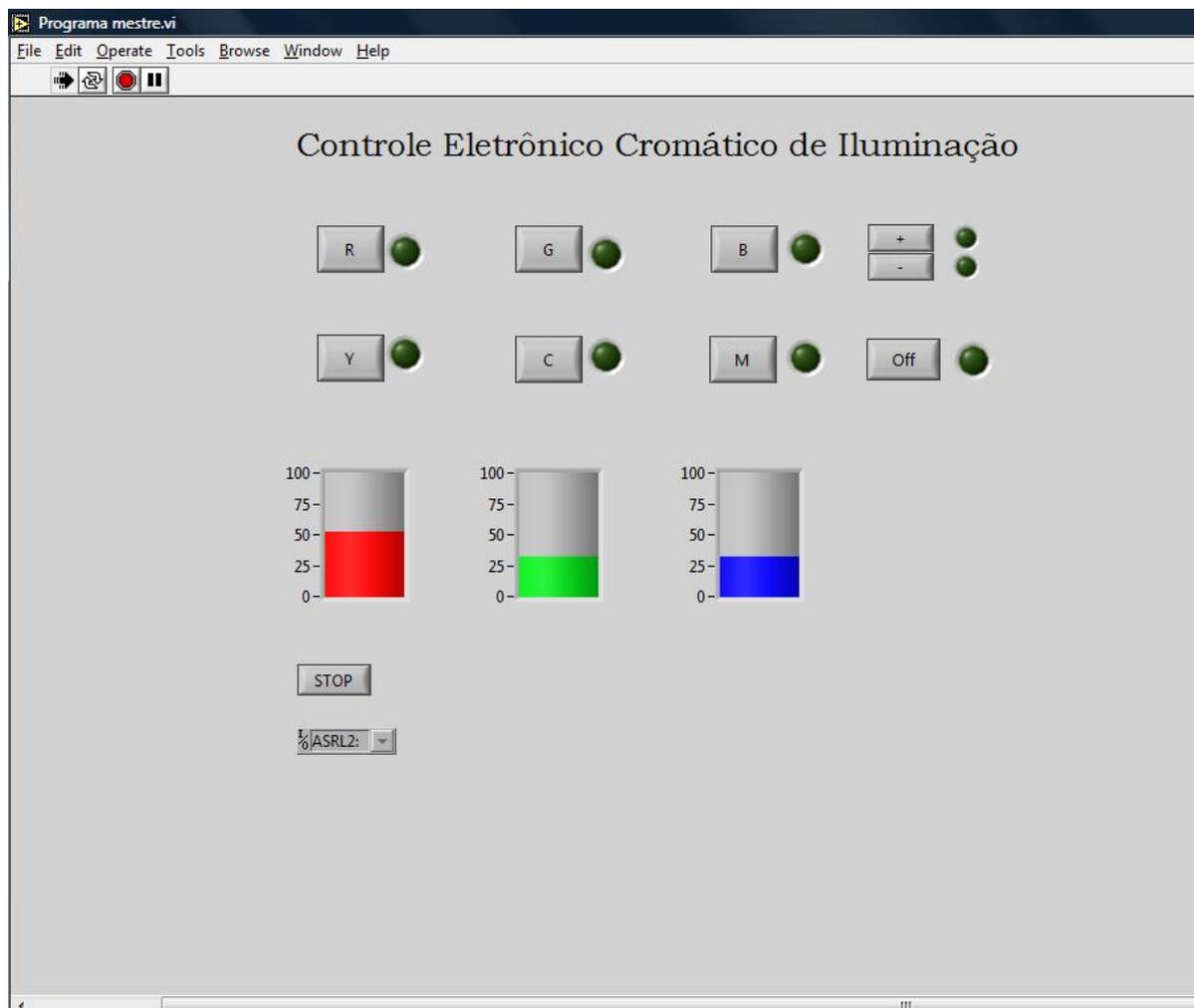


Figura 4.10 - Interface gráfica do software que comanda o dispositivo eletrônico micro controlado.

O sistema eletrônico de controle do dispositivo de iluminação cromático comandado via software por computador, é composto por um micro controlador PIC (do inglês, Peripheral Integrate Controller) de 14 bits fabricado pela empresa Microship. Este controlador foi programado de forma a receber as informações enviadas pelo software principal, identificando e acionando a cor e intensidade de cor pretendida pelo operador do equipamento. A figura 4.11, é um esquema da configuração dos dispositivos principais para o funcionamento da placa eletrônica construída.

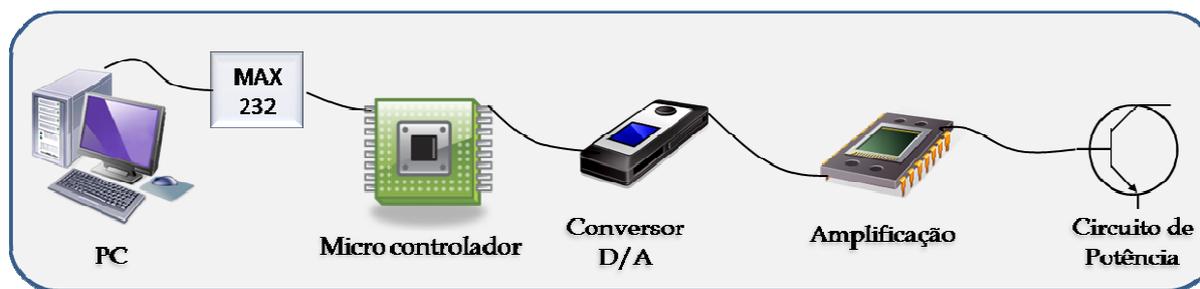


Figura 4.11 – Esquema de configuração da interface eletrônica.

Os componentes estão interligados da seguinte forma:

➔ Decodificador serial MAX 232:

O decodificador MAX 232 é uma interface que converte o sinal enviado pela porta serial do PC para que este seja recebido pelo micro controlador.

➔ Micro controlador PIC16F877A:

O micro controlador é o ‘coração’ de todo o sistema eletrônico. Ao receber a informação de cor e intensidade advinda da porta serial do computador, interpreta e aciona a função correspondente através do software gravado em sua memória interna. No projeto desta interface foram convencionados 5 bits de dados para cada LED, o que significa uma gama de variação de intensidade de 2^5 níveis de intensidade de luz para os LEDs vermelho, verde e azul respectivamente.

➔ Conversor D/A:

O conversor D/A (Digital/Analógico) tem a função de ler o sinal digital (código binário) de 5 bits enviado pelo micro controlador e transformá-lo em um sinal analógico (tensão).

➔ Amplificação e Circuito de potência:

O conversor D/A envia um sinal analógico de baixa tensão insuficiente para acionar os LEDs do sistema de iluminação. Por este motivo um amplificador é inserido no circuito da placa eletrônica. O amplificador apenas retransmite o mesmo sinal fornecido pelo conversor D/A em uma potência maior para que o circuito de potência possa detectá-lo. O circuito de potência ao ser acionado pelo sinal do amplificador libera a corrente necessária para acionamento do LED na intensidade desejada.

A imagem 4.12 está ilustrando uma foto da terceira e última versão da placa

eletrônica desenvolvida para o controle do sistema de iluminação cromático.

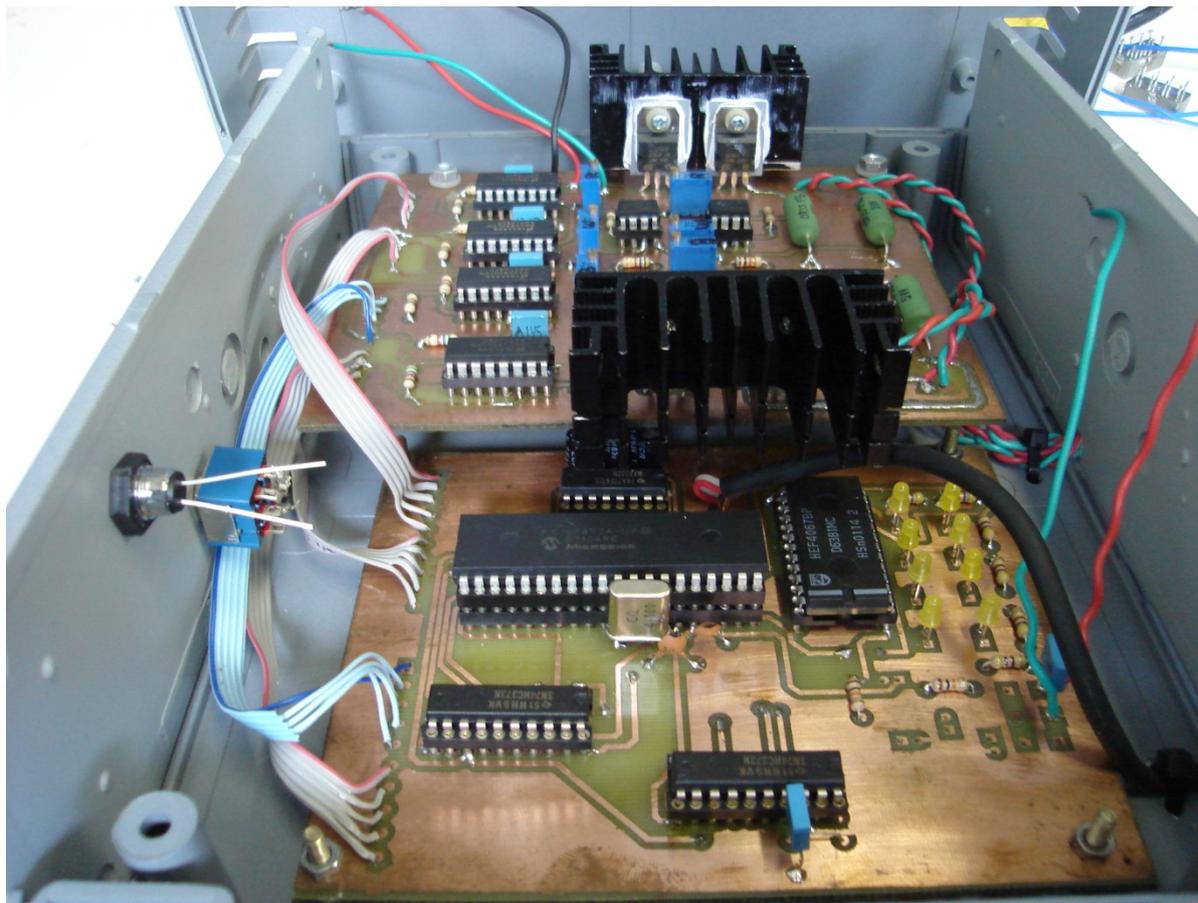


Figura 4.12 - Interface eletrônica micro controlada que comanda o dispositivo de iluminação cromático.

A última etapa de testes realizada utilizou o protótipo de base fixa micro controlado. Nesta nova versão foi possível constatar uma melhora significativa, sendo possível obter fotos *in vivo* de uma retina humana saudável.

A figura 4.13 está evidenciando imagens capturadas pela câmera CCD acoplada ao oftalmoscópio indireto. As figuras 4.13a, 4.13b, 4.13c, 4.13d e 4.13e foram obtidas através da emissão de feixes de luz originados do sistema de iluminação no olho mecânico artificial. Nas figuras 4.13f, 4.13g, 4.13h, 4.13i e 4.13j, o mesmo teste foi realizado, porém agora as imagens *in vivo* tratam de uma retina humana saudável. Os seguintes comprimentos de onda foram aplicados (obs: comprimentos de onda identificados através de um espectrofotômetro):

- ➔ 4.13a e 4.13f: 80% de 462,6 nm e 20% de 523,3 nm.
- ➔ 4.13b e 4.13g: 523,3 nm.
- ➔ 4.13c e 4.13h: 637,3 nm.

→ 4.13d e 4.13i: 60% de 523,3 nm e 40% de 637,3 nm.

→ 4.13e e 4.13j: 30% de 462,6 nm e 70% de 637,3 nm.

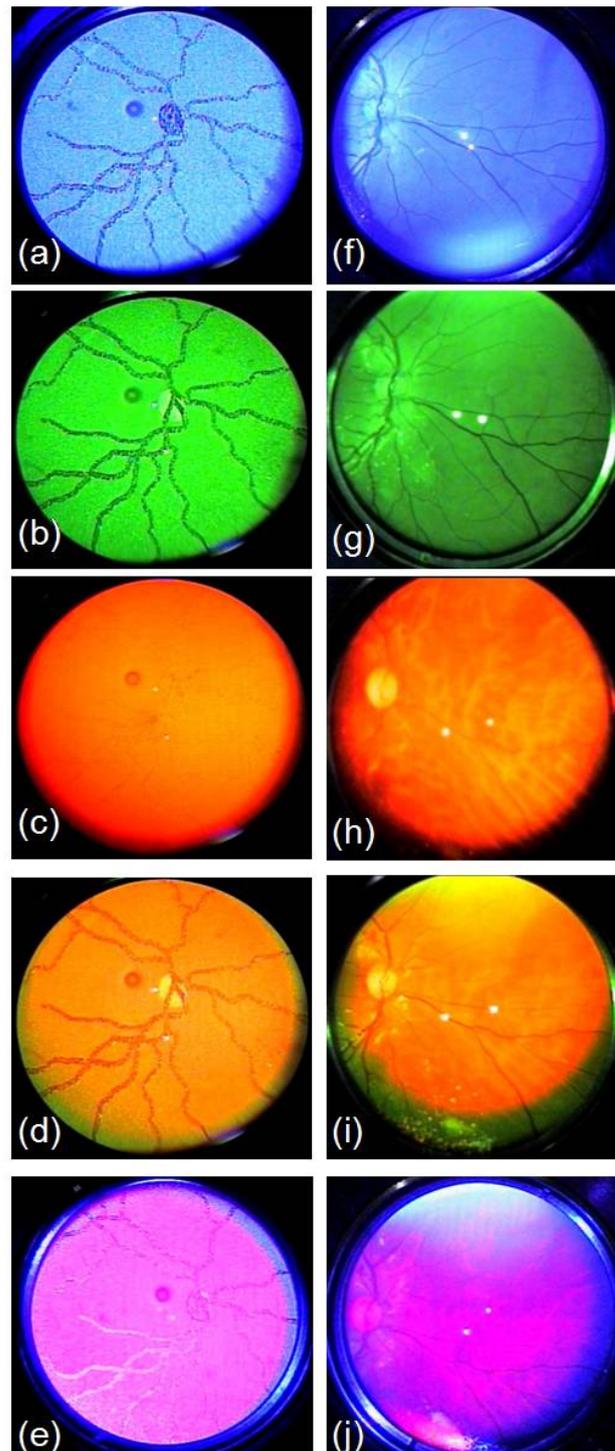


Figura 4.13 - Imagens olho mecânico e olho humano saudável: a, b, c, d e e; ilustram o olho mecânico artificial sendo iluminado com cores diferentes compostas pelo sistema cromático de iluminação. As figuras f, g, h, i e j; são imagens *in vivo* de uma retina humana saudável sendo iluminada pelas mesmas cores.

4.3 Discussão dos Resultados Finais.

Foi apresentado neste trabalho o desenvolvimento de um sistema de iluminação totalmente inovador para aplicação em oftalmoscopia indireta baseado no modelo de representação de cores RGB, que permite a composição espectral de luz em variados comprimentos de onda. Nos testes apresentados, foi possível constatar que a composição de luz colorida com fontes de luz independentes mostrou-se viável, e que diferentes comprimentos de onda quando utilizados para iluminar os tecidos que compõem o segmento posterior do globo ocular, provocam diferentes tipos de realces de contraste.

A explicação para este fenômeno está relacionada à composição bioquímica e estrutural, celular e tecidual que interage com a luz e modifica a composição espectral da mesma ^[17]. Os tecidos biológicos são compostos por diversas biomoléculas e estruturas que interagem com os fótons. Dependendo do tipo de interação observada, elas podem ser denominadas como absorvedores (grupos químicos que absorvem luz e não produzem fluorescência), espalhadores (estruturas que alteram a direção do fóton incidente, mas conservam sua energia) e fluoróforos (grupos químicos que podem converter a luz absorvida em fluorescência) ^[17].

Além das células fotorreceptoras, no fundo do olho são encontradas três tipos de biomoléculas absorvedoras e um fluoróforo. As biomoléculas absorvedoras são a hemoglobina, encontrada na retina e na coróide, a melanina, encontrada na coróide e no epitélio pigmentado da retina e o pigmento macular, encontrado na mácula ^[18]. O epitélio pigmentado da retina é composto por uma fina camada de células entre a coróide e a retina e suas principais funções são ^[19]:

- 1- Absorção de luz que passa sobre a retina para prevenir reflexões.
- 2- Suporte sanguíneo para a retina.
- 3- Restauração da fotossensibilidade.
- 4- Digestão celular.
- 5- Sustentação da retina.

No EPR (epitélio pigmentado da retina) existe a presença de uma substância denominada lipofuscina, que possui a característica de ser autofluorescente, i.e fluoróforo. A autofluorescência é um termo que descreve a característica de estruturas ou moléculas que apresentam fluorescência intrínseca ^[20]. O espectro de absorção de luz da lipofuscina

se situa entre 430-550 nm e o de emissão varia entre 500-750 nm ^[20]. Estas informações podem ser relacionadas ao contraste observado nas imagens 4.11f e 4.11g, iluminadas com azul em 460 nm e verde em 530 nm. O realce dos vasos sanguíneos da coróide, camada posterior à retina, indicam que a maior parte da luz está sendo absorvida. Estudos mostram que áreas com aumento de autofluorescência são obtidas através do acúmulo da lipofuscina, e posteriormente, quando há morte das células fotoreceptoras e conseqüente atrofia, essa área mostra diminuição da autofluorescência, sugerindo que o exame de autofluorescência seja um bom marcador para integridade do epitélio pigmentar da retina ^[21].

Outros trabalhos relacionados à detecção óptica no diagnóstico constataram que as principais faixas de absorção do espectro situado da região do visível para a hemoglobina do sangue, estão situadas entre 540-578 nm ^[17]. A coróide, camada posterior à retina, é uma região que apresenta uma grande quantidade de vasos sanguíneos e conseqüentemente abundância de hemoglobina devido ao intenso fluxo de sangue ^[22]. Considerando que as melhores faixas de absorção de luz para a retina estão entre 430-550 nm e para a coróide entre 540-578 nm, se pode explicar a alta rejeição à luz observada na imagem 4.11h, quando iluminada em comprimento de onda de 660 nm. A grande quantidade de luz refletida prejudica a visualização dos tecidos da retina e coróide. Todavia neste comprimento de onda se observa um ótimo destaque do nervo óptico, fato não observado nas imagens 4.11f e 4.11g.

Além das cores primárias vermelho, verde e azul, o sistema de iluminação cromático também permite a configuração de cores que equilibrem os realces de maneira que se torne possível visualizar com nitidez aceitável tanto os vasos sanguíneos como o nervo óptico ao mesmo tempo, fato constatado na imagem 4.11i. Esta imagem está sendo iluminada com a mistura de 60% de verde em comprimento de onda 530 nm e 40% de vermelho em comprimento de onda 660 nm.

O recurso eletrônico elaborado neste projeto e a mudança do equipamento para uma base fixa são melhorias fundamentais para que testes in vivo com pacientes que possuam doenças de retina possam ser realizados em trabalhos futuros. A nova eletrônica que configura a cor necessária para o exame instantaneamente, reduzindo o tempo de exame e desconforto proporcionado ao paciente e o fato do aparelho não estar sendo movimentado no momento da captura das imagens, garante 70% da qualidade da fotografia adquirida.

Os testes realizados até o presente momento tornaram bastante otimistas as perspectivas de sucesso deste inovador recurso para exames oftalmológicos. Todavia o

equipamento ainda carece de melhorias em seu sistema óptico e projeto mecânico, para que se torne totalmente funcional e possa ser utilizado no dia a dia de um consultório médico ou hospital para pesquisas em pacientes reais que possuam patologias de fundo de olho.

Para trabalhos futuros podem ser realizadas melhorias de software em relação à captura e processamento das imagens. O mesmo software que controla o dispositivo eletrônico de iluminação pode coordenar também o sistema de captura de imagens se integrado com a câmera CCD. Também podem ser inseridos algoritmos de processamento e análise de imagens, que possibilitariam recursos como análise de histograma RGB, além de recursos de inteligência artificial para reconhecimento de padrões baseados em características cromáticas apresentadas pelo realce de contraste proporcionado pelo sistema de iluminação.

Proposta de Trabalho.

Com base em todos os resultados de trabalhos científicos relacionados ao estudo do comportamento das cores em análises de tecidos vivos apresentados, este trabalho propôs a elaboração de um sistema sofisticado de iluminação que possua a capacidade de varrer todo o espectro na região do visível emitindo luz em qualquer comprimento de onda.

A inovação permite bom aproveitamento das fontes de luz colorida utilizadas, bem como uma composição uniforme das cores, devido o sistema óptico composto de lentes conjugadas e prismas, que permite o perfeito alinhamento dos feixes de luz, fator fundamental para alcance de uniformidade e qualidade na obtenção das cores. Os resultados dos testes apresentados mostram a eficiência deste novo recurso, e se acredita que, sua aplicação em oftalmologia proverá maior eficácia e confiabilidade nos exames, aumentando as chances de diagnósticos precoces devido ao melhor contraste de cores alcançado nas imagens onde a técnica de contraste cromático é aplicada.

5.1 Objetivos e Metas

O objetivo deste trabalho é construir um protótipo de equipamento oftalmológico com sistema de iluminação cromático capaz de varrer toda a faixa do espectro situada na região do visível. Após a construção do equipamento testes realizados sobre composição de cores de luz com fontes de luz independentes nas cores vermelho, verde e azul, baseada no modelo de representação RGB, comprova que a idéia elaborada na teoria foi comprovada na prática. Na segunda fase são realizados estudos sobre o comportamento das cores quando utilizadas para iluminar o fundo de um olho mecânico artificial que simula um olho humano verdadeiro. Esta fase também é importante para

Referências Bibliográficas.

- [1] Pedrotti SL, *Óptics and Vision*, First Edition, Benjamin Cummings 1997.
- [2] Kanski J J, *Oftalmologia Clínica*, 1º Edição, Elsevier 2004.
- [3] Spalton JD, *Atlas da Oftalmologia Clínica*, 3º Edição, Elsevier 2006.
- [4] Bruno MO, Carvalho VAL, *Óptica Fisiológica da Visão*, 1º Edição, Roca 2008.
- [5] Hoffman G, *Tutorial CIELab Color Space*, Department of Mechanical Engineering - University of Applied Sciences in Emden/Germany, December 19th 2008.
- [6] Filho MO, Neto VH, *Processamento de Imagens Digitais*, Brasport 1999.
- [7] Pedrini H, William RS, *Análise de Imagens Digitais*, Thomson 2008.
- [8] Gonzales CR, Woods, E. R., *Digital Image Processing*, Second Edition, Prentice Hall 2002.
- [9] Claridge E, Preece SJ, “An inverse method for the recovery of tissue parameters from colour images”. In: Taylor CJ, Noble JA, editors. *Information processing in medical imaging*. Heidelberg: Springer-Verlag; 2003; 306–17.
- [10] Stephen JP, Claridge E, “Physics based medical image understanding of the colouration of the ocular fundus with application to the detection of diabetic retinopathy”, *Medical Image Understanding and Analysis*; 2000; 7-10.
- [11] Barrionuevo WR, Filho EM, Bagnato VS, “Enhanced visualization of histological samples with an adjustable RGB contrast system with application for tissue used in photodynamic therapy”. *Microscopy Research and Technique*. 2008; 403-8.
- [12] Beauvoit B, Kita T, Chance B, “Contribution of the mitochondrial compartment to

- the optical properties of the rat liver: A theoretical and practical approach”. *Biophys J.* 1994; 2501-10.
- [13] Beauvoit B, Evans SM, Jenkins TW, Miller EE, Chance B. “Correlation between the light scattering and the mitochondrial content of normal tissues and transplantable rodent tumors”. *Anal Biochem.* 1995; 167-74.
- [14] Owen CG, Ellis TJ, Rudnicka AR, Woodward EG, “Optimal green (red-free) digital imaging of conjunctival vasculature”. *Ophthalmic and Physiological Optics.* 2002; 234-43.
- [15] Hamada S, Jain S, Sivagnanavel V, Patel N, Chong NV, “Drusen classification in bilateral drusen and fellow eye of exudative age-related macular degeneration”. *Eye.* 2006; 199-202.
- [16] Carvalho EG, *Desenvolvimento de um Sistema Óptico para Retinografia e Angiografia Digital [tese]*. São Carlos: Instituto de Física da Universidade de São Paulo; 2006.
- [17] Bagnato SV, *Novas Técnicas Ópticas para as Áreas da Saúde*, 1º Edição, Livraria da Física 2008.
- [18] Styles BI, Calcagni A, Claridge E, Orihuela-Espina F, Gibson MJ, “Quantitative analysis of multi-spectral fundus images”, *Medical Image Analysis.* 2006; 578-97.
- [19] Mitre J, Farah EM, Bonomo PP, Cursino W, Mitre J, “Ação da Triancinolona na fotocoagulação da retina com laser de diodo”. *Retina&Vítreo.* Novembro de 2006 - (http://www.universovisual.com.br/publisher/preview.php?edicao=1106&id_mat=2049) - acessado em 16/03/09.
- [20] Navajas VE, Daniel L, Castro L, Daré A, Farah EM, Cardilo A J, “Autofluorescência em Retina”, *SBRV.* 2007; 8-14.
- [21] Côco M, Baba T N, Sallun FMJ., “Avaliação da autofluorescência do fundo de olho nas distrofias de retina com o aparelho Heidelberg Retina Angiograph2”, *Arquivos Brasileiro de Oftalmologia.* 2007; 739-45.
- [22] Souza VN, “Doenças do Corpo Vítreo, Retina e Uveíte”, *Simpósio: Oftalmologia para Clínico, Medicina Ribeirão Preto.* 1997; 69-73.
- [23] Siscouto AR, Szenberg F, Tori R, Raposo BA, Celes W, Gattas M, *Realidade Virtual: Conceitos e Tendências – livro do pré-simpósio SRV 2004*, Editora Mania de Livro 2004.
- [24] <http://www.welchallyn.com/default.htm> – acessado em 21/05/2008.
- [25] www.opto.com.br – acessado em 26/05/2008.

ANEXO 1

**Artigo aceito para publicação nos Arquivos Brasileiros de
Oftalmologia.**

Desenvolvimento e resultados preliminares de um sistema cromático de iluminação para oftalmoscópios indiretos

Development and preliminary results of a chromatic illumination system for indirect ophthalmoscopes

Thiago Bellini Oliveira^I, Luis Carlos Trevelin^{II}, Fernando Manoel Araújo Moreira^{III}, Vanderlei Salvador Bagnato^{IV}, Luis Alberto Viera de Carvalho^V.

^I Pós-graduando, nível mestrado, do programa de pós-graduação em Biotecnologia pela Universidade Federal de São Carlos - UFSCAR - São Carlos (SP) - Brasil.

^{II} Doutor em Informática com pós-doutorado no Computing Lab da UniKent – Inglaterra. Professor associado I e vice coordenador do Departamento de Biotecnologia da Universidade Federal de São Carlos - UFSCAR - São Carlos (SP) - Brasil.

^{III} PhD em física aplicada pelo Center for Superconductivity Research, University of Maryland/USA. Professor associado e coordenador do Departamento de Biotecnologia da Universidade Federal de São Carlos - UFSCAR - São Carlos (São Paulo) - Brasil.

^{IV} PhD em física pelo Massachusetts Institute of Technology e professor titular da Universidade de São Paulo - USP - São Carlos (SP) - Brasil.

^V PhD em óptica e Coordenador de pesquisas do Laboratório de Óptica Oftálmica do Instituto Física de São Carlos. Universidade de São Paulo - USP - São Carlos (SP) - Brasil. Pos-doc na University of Califórnia at Berkeley e no Center for Visual Science em Rochester, Nova York.

RESUMO

Objetivos: Aplicação da técnica de contraste cromático em exames de fundo de olho com oftalmoscópios indiretos. Apresentamos neste trabalho testes preliminares de um novo sistema de iluminação para oftalmoscópios indiretos, elaborado a partir de técnicas de composição cromática, denominado Sistema de Iluminação Cromático, que permite a composição de cores de luz situadas dentro do espectro visível. A finalidade deste sistema é permitir o uso da técnica de cromaticidade, já estudada em outras áreas da medicina como odontologia e dermatologia, na visualização de fundo de olho em exames de oftalmoscopia indireta.

Métodos: Para desenvolvimento deste trabalho foi adquirido um oftalmoscópio comercial comum e de uso geral. O equipamento teve seu sistema de iluminação original de fábrica, composto de uma fonte de luz branca alógena e filtros verde e azul, substituído pelo novo sistema de iluminação cromático implementado neste projeto.

Resultados: Foram realizados testes preliminares em um olho mecânico que simula as mesmas características de um olho humano biológico in vivo. Os resultados confirmam a possibilidade de obter-se luz em diferenciados comprimentos de ondas através do uso de fontes de luz independentes nas cores vermelho, verde e azul, para uso em instrumentação oftálmica. Embora exames in vivo com pacientes que possuam doenças de retina ainda estejam em fase de testes em nosso laboratório no IFSC-USP & UNIFESP, os resultados preliminares obtidos aqui demonstram que a técnica de contraste cromático para exames de fundo de olho pode futuramente representar um diferencial na qualidade dos exames de

oftalmoscopia indireta.

Conclusão: Foi apresentado neste trabalho o desenvolvimento de um sistema de iluminação totalmente inovador para aplicação em oftalmoscopia. Através dos diferentes contrastes e brilhos nas imagens de fundo de olho proporcionados pelas diferentes cores do sistema de iluminação cromático, acreditamos que em uma próxima etapa possamos verificar as vantagens e/ou desvantagem desta técnica no diagnóstico de diferentes patologias da retina. **Descritores:** Oftalmoscopia Indireta, Técnicas de Diagnóstico em Oftalmologia, Fluorescência, Fundo de Olho, Retina.

ABSTRACT

Purpose: Chromatic contrast is a technique used in some areas of medicine to provide better visualization of biological tissues. Based on principles of color composition, a new illumination system was constructed by using colored emitting diodes to reproduce the spectral range of the visible light. This technique was devised to be used into indirect ophthalmoscopes to improve the visualization of the posterior segment of the eye.

Methods: The original illumination system of a general purpose indirect ophthalmoscope was substituted by a system of colored emitting diodes.

Results: Using an electronic interface it was possible to control the intensity of the color lights and therefore generate different wavelengths in the visible spectrum of the light. Preliminary tests undertaken in a mechanical model of the human eye generated very clear and homogenous colors. However in vivo exams with patients are preparing in our laboratory at the IFSC-USP and UNIFESP, the preliminary results obtained here show the possibilities of the chromatic contrast technique, represent in the future a differential in analyzes about posterior segment of the eye.

Conclusion: The use of colored emitting diodes to reproduce the spectral range of the visible light in indirect ophthalmoscopes seems to be a promising technological

advance to the funduscopy of the eye. This is an innovation that can bring better quality exams with indirect ophthalmoscopes.

Keywords: Indirect Ophthalmoscope, Diagnostic Techniques in Ophthalmology, Fluorescence, Posterior Eye Segment, Retina, Fundoscopy.

INTRODUÇÃO

A aplicação de recursos de contraste cromático para análise de tecidos biológicos é uma prática que vem sendo pesquisada em alguns ramos da medicina ⁽¹⁾. Comprimentos de ondas situados no intervalo do espectro visível, quando entram em contato com tecidos biológicos, interagem com os mesmos tanto na superfície, como em seu interior. Essas interações (absorção, dispersão, refração) alteram a composição espectral da luz emergente, modificando a imagem observada de acordo com a morfologia e propriedades ópticas das substâncias e estruturas presentes. A luz que é refletida, ou que atravessa o tecido, carrega informações a respeito de sua constituição, propriedades ópticas, densidade, e geometria ⁽¹⁾. Variações nos comprimentos de ondas da luz incidente podem então proporcionar uma maior percepção visual para diferenciação de estruturas orgânicas, desde que estas produzam diferentes respostas ópticas e, por último, alcance um contraste maior em torno das áreas observadas.

Um amplo número de técnicas é aplicado com o intuito de analisar imagens biológicas, muitas das quais foram inicialmente desenvolvidas para aplicações de propósito dermatológico ⁽²⁻⁴⁾. Estudos posteriores têm destacado órgãos internos, particularmente o fígado, que é de grande interesse em estudos bioquímicos e patológicos, devido sua importância em muitas reações metabólicas ⁽⁵⁻⁶⁾. O fígado também abrange muitas outras organelas, bem como estruturas morfológicas formadas por hepatócitos e vasos sanguíneos. Cada um destes constituintes tende a absorver e refletir a luz de um modo específico ⁽⁷⁻⁸⁾.

Em estudo realizado em ⁽¹⁾, um microscópio Carl Zeiss® ⁽⁹⁾ teve seu sistema de iluminação adaptado para o RGB (do inglês, “Red, Green and Blue”), possibilitando a visualização de amostras de tecidos biológicos com diferentes intensidades de cores, proporcionando realces diferenciados das estruturas do tecido de acordo com o comprimento de onda aplicado. Trabalhos relacionados à medicina oftálmica utilizam técnicas de Retinografia colorida e Red Free, para realce de contraste em imagens de fundo de olho visando o estudo de patologias ⁽¹⁰⁻¹¹⁾. Em oftalmologia, o exame denominado Retinografia colorida ilumina o pólo posterior com luz de comprimento de onda na região do visível do espectro e a imagem da retina pode ser capturada através de fotografia ou filmagem, dependendo do tipo de equipamento ⁽¹²⁾.

Algumas estruturas podem ser ressaltadas quando iluminadas com luz de comprimento de onda na região verde do espectro e esse tipo de Retinografia pode ser realizada com o equipamento utilizando uma fonte de luz emitindo apenas nessa região ⁽¹²⁾. Neste tipo de exame, conhecido como Red Free, a imagem da retina está livre da banda vermelha do espectro de radiação, o que permite melhor contraste na imagem retiniana capturada ⁽¹³⁾. A figura 1a ilustra uma imagem adquirida em um exame de Retinografia colorida e a figura 1b uma imagem Red Free.



Figura 1. Imagens do pólo posterior em exames de Retinografia colorida em (a) e Red Free em (b).

Neste trabalho é apresentado um novo sistema de iluminação para aplicação em oftalmoscopia indireta. Este sistema, elaborado a partir do modelo de cores RGB, será adaptado em um oftalmoscópio binocular indireto, equipamento utilizado por oftalmologistas na realização de exames de fundo de olho. O exame de fundo de olho avalia as condições do humor vítreo, da retina, dos vasos sanguíneos (veias e artérias retinianas) e do nervo óptico. Além das doenças oculares, como glaucoma e retinopatia, é possível detectar outras enfermidades como diabetes, distúrbios da tireóide, câncer, AIDS, leucemia, toxoplasmose e inflamações reumáticas. O fundo do olho é o único local do corpo humano em que os vasos sanguíneos são vistos diretamente, e qualquer alteração neste local pode indicar um desequilíbrio. O contraste cromático abordado neste trabalho diferencia-se de outros trabalhos, pois não é um contraste artificial processado em computador, e também não faz uso de filtros para obtenção de cores utilizando uma fonte de luz branca como fonte principal. Aqui serão utilizadas fontes de luz independentes nas cores vermelho, verde e azul, que fazem a composição espectral da luz utilizando como base o modelo de representação de cores RGB. A inovação promete bom aproveitamento das fontes de luz colorida utilizadas, bem como uma composição uniforme das cores, devido o sistema óptico composto de lentes conjugadas e prismas, que permite o perfeito alinhamento dos feixes de luz, fator fundamental para alcance de uniformidade e qualidade na obtenção das cores. Testes preliminares mostram a eficiência deste novo recurso e acredita-se que, sua aplicação em oftalmoscopia indireta proverá maior eficácia e confiabilidade nos exames, aumentando as chances de diagnósticos precoces devido ao melhor contraste de cores alcançado nas imagens onde a técnica de contraste cromático é aplicada.

O oftalmoscópio é um instrumento óptico portátil cujo sistema de iluminação é posicionado entre os olhos do examinador, tornando possível obter observações

estereoscópicas de partes extensas da retina a pequenas magnificações⁽¹³⁾.

O princípio do oftalmoscópio indireto consiste em focalizar o feixe de luz oriundo de uma extensa área da retina do paciente sobre a retina do observador por meio de uma lente de visualização. Uma imagem invertida da retina é formada sobre o plano focal desta lente. O efeito binocular é obtido através de espelhos ou prismas.

MATERIAIS

Para o desenvolvimento deste trabalho foi adquirido um oftalmoscópio comercial comum e de uso geral fabricado pela empresa Eyetec. Neste mesmo equipamento foi então adaptado nosso sistema de iluminação. O equipamento teve seu sistema de iluminação original de fábrica, composto de uma fonte de luz branca alógena e filtros verde e azul, substituído pelo novo sistema de iluminação RGB baseado em super LEDs (do inglês, “Light Emitting Diode”) implementados neste projeto. A seguir descrevemos como este novo sistema de iluminação foi construído.

Sistema de Iluminação Construído

A composição do feixe de luz colorido é processada através da combinação das luzes de LEDs de alta intensidade nas cores vermelha, verde e azul, acoplados em um sistema de lentes e espelhos. As lentes produzem feixes de luz divergentes que são sobrepostos através do alinhamento dos espelhos. Uma interface eletrônica configurada para fornecer tensões diferentes para cada LED permite o ajuste individual de intensidade luminosa. Esta característica é o que possibilita a varredura do espectro visível em diferentes tonalidades de cor.

RESULTADOS

Nesta seção mostramos os resultados práticos obtidos. A figura 2 mostra uma foto do protótipo onde o sistema de iluminação cromático foi adaptado à estrutura de um

oftalmoscópio binocular indireto.

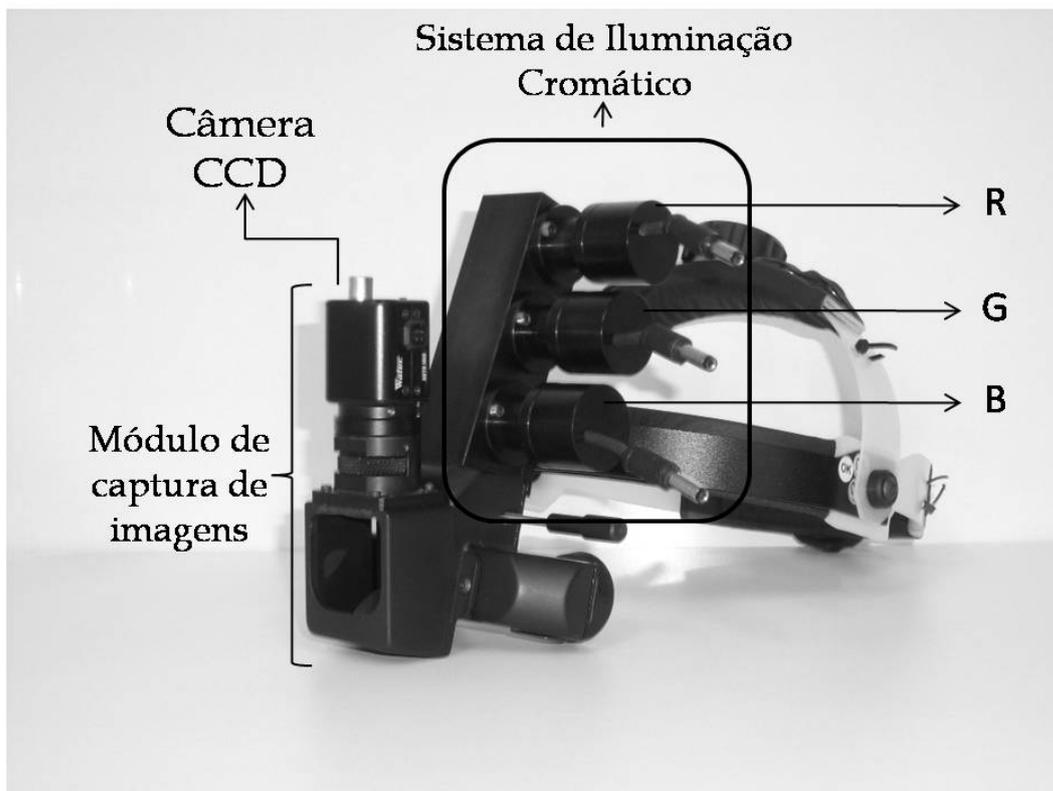


Figura 2. Protótipo onde o sistema de iluminação cromático foi adaptado à estrutura de um oftalmoscópio binocular indireto.

A figura 3 ilustra o novo equipamento em funcionamento, durante a realização da composição espectral. A mistura na proporção correta de vermelho, verde e azul emite um feixe de luz branca (figura 3a). As demais cores observadas são emitidas através de diferentes configurações dos botões que regulam a tensão de cada LED.

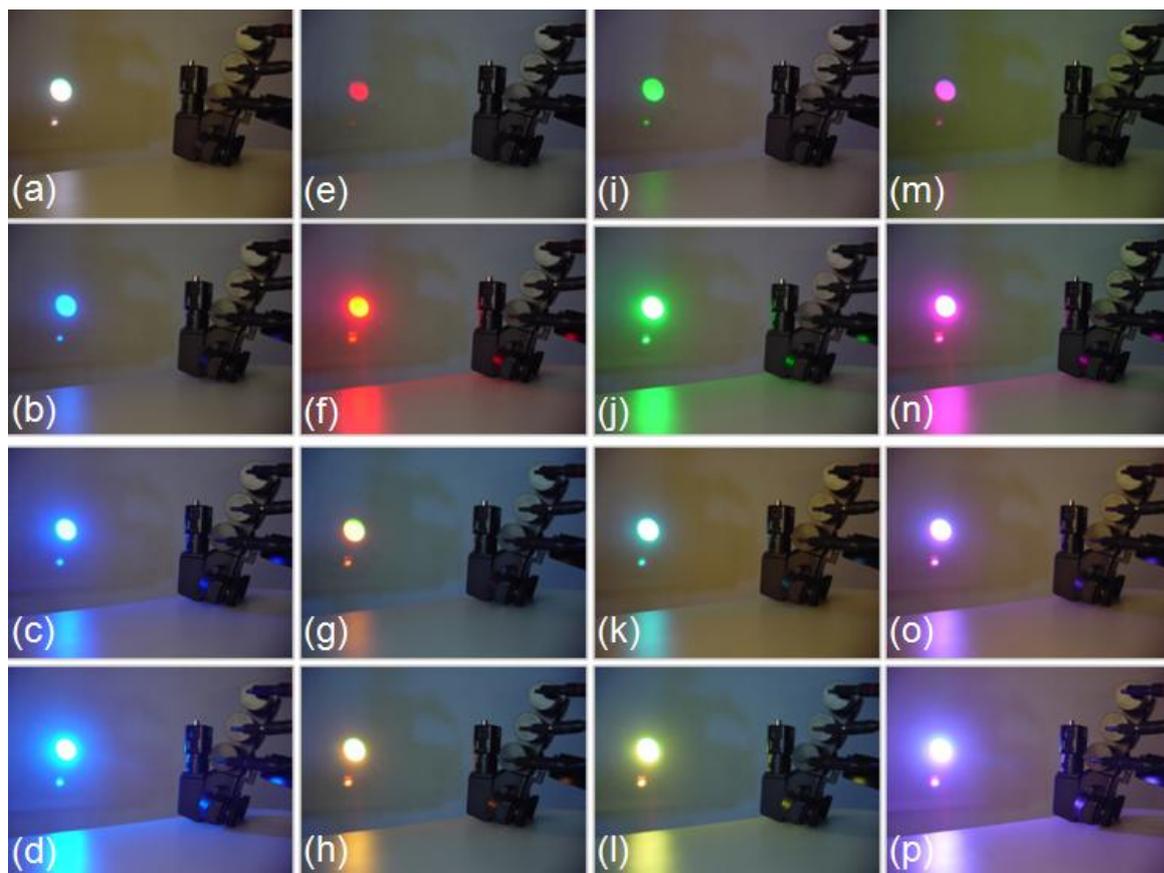


Figura 3: Equipamento em funcionamento realizando a composição espectral. As cores observadas são obtidas através de diferentes configurações dos botões que regulam a tensão de cada LED (do inglês, “Light Emitting Diode”).

Na figura 4, são exibidas as primeiras imagens obtidas pelo protótipo em testes realizados em uma retina humana saudável (imagens da direita) e um olho mecânico (este olho é fabricado pela empresa Heine® – www.heine.com – e tem características semelhantes a um olho biológico, sendo um importante acessório para o aprendizado de médicos residentes com especialização em oftalmologia - imagens da esquerda). As imagens captadas pela câmera ccd (do inglês, “Charge Coupled Device”) acoplada ao oftalmoscópio ilustram uma retina humana real e uma artificial iluminadas por luz em comprimentos de ondas variados. Em 4a, 4b, 4c, 4d e 4e estão ilustradas imagens do olho mecânico sendo iluminado por quatro cores diferentes emitidas pelo sistema de iluminação cromático. O mesmo acontece nas imagens 4f, 4g, 4h, 4i e 4j, com a diferença de serem imagens de uma retina humana saudável *in vivo*.

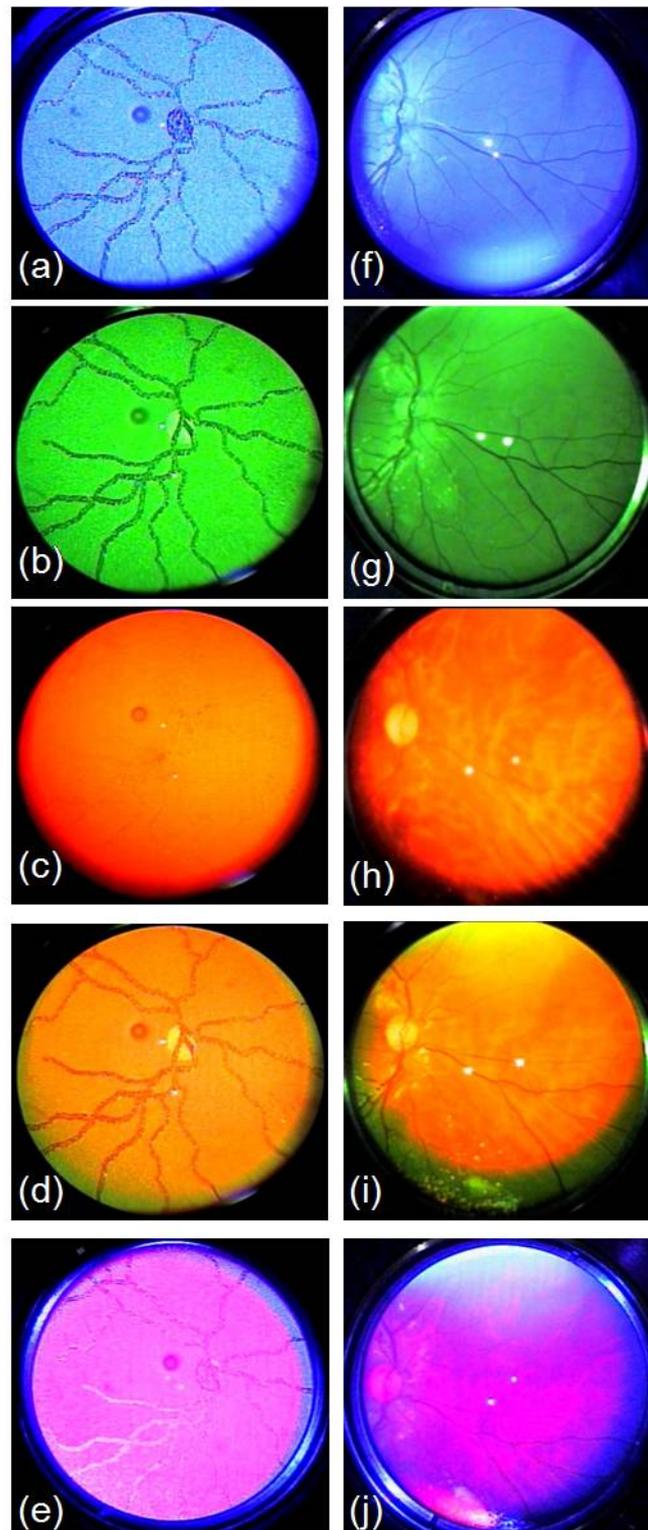


Figura 4: Imagens da retina de um olho mecânico (coluna da esquerda), e de um olho humano com retina saudável (coluna da direita). As imagens foram capturadas pela câmera ccd (do inglês, “Charge Coupled Device”) colorida do oftalmoscópio indireto, enquanto o sistema cromático de iluminação emitia feixes de luz em variados comprimentos de ondas.

DISCUSSÃO

Foi apresentado neste trabalho o desenvolvimento de um sistema de iluminação totalmente inovador para aplicação em oftalmoscopia indireta baseado no modelo de representação de cores RGB, que permite a composição espectral de luz em variados comprimentos de ondas.

Nos testes preliminares apresentados neste artigo, onde a composição de luz colorida com fontes de luz independentes mostrou-se possível, foi possível constatar que diferentes comprimentos de ondas quando utilizados para iluminar os tecidos que compõem o segmento posterior do globo ocular, provocam diferentes tipos de realces de contraste. Pretende-se agora iniciar uma próxima etapa deste estudo, que consistirá na aplicação desta tecnologia em exames *in vivo* de fundo de olho, onde uma investigação detalhada será realizada através do acompanhamento de casos de pacientes que possuam doenças de retina. As informações coletadas neste estudo clínico fornecerão os resultados esperados a respeito da relação entre determinados comprimentos de ondas e sintomas patológicos. Acredita-se que, através do realce proporcionado pelas diferentes cores de luz emitidas pelo sistema de iluminação cromático, patologias de diferentes naturezas poderão ser analisadas sob diferentes aspectos e com maior acurácia.

A adaptação das novas peças que compõem o sistema de iluminação na estrutura do oftalmoscópio indireto, apesar de representarem também uma mudança estética, não influenciaram na parte operacional do aparelho, e a interface eletrônica destaca-se pela facilidade do manuseio e ajuste fino das cores. O protótipo apresentado, foi construído com LEDs de auto brilho fabricados para emissão de luz exclusivamente na região visível do espectro. Medidas realizadas com um equipamento chamado espectrômetro, confirmaram a emissão de feixes de luz colorida na faixa de 450nm a 630nm, varrendo o espectro de cores do azul até o vermelho. Podem ser descartadas possíveis reações de foto

toxicidade causadas como consequência da emissão de raios ultravioleta, cujos comprimentos de ondas estão situados abaixo dos 400nm.

Para trabalhos futuros o equipamento pode ganhar um sistema de iluminação mais compacto, e a interface eletrônica poderá ser microcontrolada, o que significa que para cada patologia a ser estudada, existirá um botão que configurará automaticamente o feixe de luz no tom mais adequado para aquela anomalia.

CONCLUSÕES

Os testes realizados com o primeiro protótipo abriram espaço para a continuidade deste trabalho. Constatou-se nesta primeira etapa, a possibilidade de realizar a composição de luz varrendo o espectro visível, característica fundamental para que a aplicação da técnica de contraste cromático para exames de fundo de olho seja realizada com sucesso. Também foi possível notar que mesmo em uma retina humana saudável, diferentes comprimentos de ondas causam efeitos de contraste diferenciados, como no caso das imagens iluminadas pelo vermelho (figura 4f) e pelo verde (figura 4g). O próximo estágio deste trabalho está sendo preparado e consiste em uma longa bateria de testes in vivo em pacientes que possuam diversos tipos de doenças de retina. Nesta próxima etapa, serão constatados os possíveis efeitos benéficos que a cromaticidade poderá proporcionar em exames do segmento posterior e quantos e quais comprimentos de ondas terão uma aplicabilidade real na análise de sintomas patológicos. Com os diferentes realces proporcionados pelas cores do novo sistema de iluminação, acredita-se que as diferentes anomalias poderão ser estudadas sob vários aspectos, o que seria uma importante contribuição para a oftalmologia, no caso específico de exames de fundo de olho.

REFERÊNCIAS

1. Barrionuevo WR, Filho EM, Bagnato VS. Enhanced visualization of histological samples with an adjustable RGB contrast system with application for tissue used in photodynamic therapy. *Microscopy Research and Technique*. 2008;71(6):403-8.
2. Claridge E, Preece SJ. An inverse method for the recovery of tissue parameters from colour images. In: Taylor CJ, Noble JA, editors. *Information processing in medical imaging*. Heidelberg: Springer-Verlag; 2003;306–17.
3. Haeghen YV, Naeyaert JMAD, Lemahieu I, Philips W. An imaging system with calibrated color image acquisition for use in dermatology. *IEEE Trans Med Imaging*. 2000;19(7):722-30.
4. Leong FJW-M, Brady M, McGee JO. Correction of uneven illumination (vignetting) in digital microscopy images. *J Clin Pathol*. 2003;56(8):619-21.
5. Banerji MA, Buckley MC, Chaiken RL, Gordon HE, Lebovitz JG. Liver fat, serum triglycerides and visceral adipose tissue in insulin-sensitive and insulin-resistant black men with NIDDM. *Int J Obesity*. 1995;19(12):846-50.
6. Marceau P, Biron S, Hould F-S, Marceau S, Simard S, Thung SN et al. Liver pathology and the metabolic syndrome X in severe obesity. *Clin Endocrin Metab*. 1999;84(5):1513-7.
7. Beauvoit B, Kita T, Chance B. Contribution of the mitochondrial compartment to the optical properties of the rat liver: A theoretical and practical approach. *Biophys J*. 1994;67(6):2501-10.
8. Beauvoit B, Evans SM, Jenkins TW, Miller EE, Chance B. Correlation between the light scattering and the mitochondrial content of normal tissues and transplantable rodent tumors. *Anal Biochem*. 1995;226(1):167-74.

9. Microscópio Carl Zeiss (<http://www.zeiss.com/4125681F004CA025/Contents-Frame/286BA4D22B14DEE985256B4A007C3686>)
10. Owen CG, Ellis TJ, Rudnicka AR, Woodward EG. Optimal green (red-free) digital imaging of conjunctival vasculature. *Ophthalmic and Physiological Optics*. 2002;22(3):234-43.
11. Hamada S, Jain S, Sivagnanavel V, Patel N, Chong NV. Drusen classification in bilateral drusen and fellow eye of exudative age-related macular degeneration. *Eye*. 2006;20(8):199-202.
12. Carvalho EG. Desenvolvimento de um Sistema Óptico para Retinografia e Angiografia Digital [tese]. São Carlos: Instituto de Física da Universidade de São Paulo; 2006.
13. Bruno OM, Carvalho LAV. Óptica e Fisiologia da Visão: Uma abordagem Multidisciplinar. São Paulo: Editora Roca; 2007.

ANEXO 2

**Trabalho Apresentado no formato de pôster:
Research Day - Instituto da Visão (UNIFESP).**

Desenvolvimento e Resultados Preliminares de um Sistema Cromático de Iluminação para Oftalmoscópios Indiretos

Thiago Bellini Oliveira^I, Luis Carlos Trevelin^I, Fernando Manoel Araújo Moreira^I, Vanderlei Salvador Bagnato^{II}, Luis Alberto Vieira de Carvalho^{III}.

I. Departamento de Biotecnologia da Universidade Federal de São Carlos - UFSCAR - São Carlos (SP) - Brasil.

II. Instituto de Física de São Carlos - Universidade de São Paulo (IFSC-USP - São Carlos (SP)- Brasil).

III. Escola Paulista de Medicina – UNIFESP.

RESUMO

Objetivos: Aplicação da técnica de contraste cromático em exames de fundo de olho com oftalmoscópios indiretos. Apresentamos neste trabalho testes preliminares de um novo sistema de iluminação para oftalmoscópios indiretos, elaborado a partir de técnicas de composição cromática, denominado Sistema de Iluminação Cromático, que permite a composição de cores de luz situadas dentro do espectro visível. A finalidade deste sistema é permitir o uso da técnica de cromaticidade, já estudada em outras áreas da medicina como odontologia e dermatologia, na visualização de fundo de olho em exames de oftalmoscopia indireta.

Métodos

Para desenvolvimento deste trabalho foi adquirido um oftalmoscópio comercial comum e de uso geral. Neste mesmo equipamento foi então adaptado o sistema de iluminação. O equipamento teve seu sistema de iluminação original de fábrica, composto de uma fonte de luz branca alógena e filtros verde e azul, substituído pelo novo sistema de iluminação cromático implementado neste projeto.

Resultados

Foram realizados testes preliminares em um olho mecânico que simula as mesmas características de um olho humano real. Os resultados confirmam a possibilidade de obter-se luz em diferenciados comprimentos de ondas através do uso de fontes de luz independentes nas cores vermelho, verde e azul. Com isto consideramos que a técnica de contraste cromático para exames de fundo de olho pode inovar e melhorar a qualidade dos exames de oftalmoscopia indireta.

Conclusão

Foi apresentado neste trabalho o desenvolvimento de um sistema de iluminação totalmente inovador para aplicação em oftalmoscopia. O sucesso alcançado nos testes preliminares apresentados neste artigo possibilita o início de uma próxima etapa deste estudo. Nesta nova etapa esta tecnologia será aplicada em exames *in vivo* de fundo de olho com pacientes que possuam doenças de retina, pois se acredita que, através do realce proporcionado pelas diferentes cores de luz emitidas pelo sistema de iluminação cromático, patologias de diferentes naturezas poderão ser analisadas sob diferentes aspectos e com maior acurácia.

