



MESTRADO INTEGRADO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA

FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Caracterização objetiva da catarata com recurso a técnicas por ultrassons

Danilo Andrade de Jesus
Coimbra, 2012



MESTRADO INTEGRADO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA

FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Caracterização objetiva da catarata com recurso a técnicas por ultrassons

Dissertação apresentada à Universidade de Coimbra para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Engenharia Biomédica, realizada sob a orientação do Professor Doutor Mário Santos, do Professor Doutor Jaime Santos e do Mestre Miguel Caixinha, do Departamento de Eletrotécnica e Computadores da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra.

Danilo Andrade de Jesus

Coimbra, 2012

Esta cópia da tese é fornecida na condição de que quem a consulta reconhece que os direitos de autor são pertença do autor da tese e que nenhuma citação ou informação obtida a partir dela pode ser publicada sem a referência apropriada.

This copy of the thesis has been supplied on condition that anyone who consults it is understood to recognize that its copyright rests with its author and that no quotation from the thesis and no information derived from it may be published without proper acknowledgement.

À minha avó Luísa Rosa Gouveia

Agradecimentos

O trabalho apresentado foi realizado no Laboratório de Tecnologia de Materiais Eletrónicos e Ultrassons do Departamento de Engenharia Eletrotécnica e de Computadores em parceria com o Departamento de Física, no âmbito do projeto de Mestrado em Engenharia Biomédica, contando com o apoio e colaboração de várias pessoas, sem às quais não seria possível chegar ao fim desta caminhada de cinco anos. É impossível nomear todas as pessoas que diretamente ou indiretamente contribuíram para este percurso, no entanto, em particular, queria agradecer:

Ao Professor Doutor Jaime Batista dos Santos e ao Professor Doutor Mário J S F dos Santos, orientadores científicos deste trabalho, pelo apoio na resolução de problemas surgidos e pela confiança depositada.

Ao Mestre Miguel Caixinha, supervisor deste trabalho, pela sua constante paciência, disponibilidade e colaboração sempre que solicitado.

À minha mãe, Encarnação Gouveia Andrade, ao meu pai, Luís de Jesus, aos meus irmãos, Élvio Jesus e Flávio Jesus, e ao meu sobrinho, Mateus Jesus, pelo carinho, pela confiança e por serem a minha inspiração ao longo destes anos.

Aos amigos e colegas de Coimbra, Anastácio Sousa, João Dias, Pedro Santos, Pedro Vaz e Tobias Correia por todos os momentos que partilhamos ao longo do percurso académico.

Aos madeirenses, Agostinho Andrade, Amanda Andrade, Anabela Pestana, Carlos Silva, Hugo Brandão, Lídia Fernandez, Luís Correia e Yenny Ferreira pela amizade e apoio prestado ao longo destes anos.

Resumo

A catarata resulta da acumulação de lesões ao longo do tempo, o que conduz à alteração do cristalino. Atualmente existem mais de 20 milhões de pessoas no mundo que sofrem de catarata, sendo a principal causa da perda de visão. A facoemulsificação é o procedimento cirúrgico mais utilizado para extrair a catarata e recuperar a acuidade visual. A determinação incorreta da energia ótima de facoemulsificação, que depende da rigidez do cristalino com catarata, poderá provocar danos irreversíveis, nomeadamente a destruição das células do endotélio da córnea ou a destruição da cápsula posterior do cristalino.

As técnicas por ultrassons podem ser utilizadas para determinar a rigidez do cristalino. Nesse âmbito, procedeu-se à caracterização objetiva da catarata em cristalinos de suínos, permitindo a análise de parâmetros acústicos como a velocidade e a atenuação *ex-vivo*. A velocidade de propagação foi calculada através de três abordagens diferentes, o tempo de voo entre as cápsulas anterior e posterior, a análise em frequência e o tempo de voo utilizando um refletor plano. O cálculo da atenuação também foi realizado considerando três metodologias: a diferença espectral entre os ecos das cápsulas anterior e posterior, a diferença espectral entre o eco de um refletor, com e sem o cristalino, e a análise através do sinal de *backscattering*. Ainda relativamente à atenuação, foi estudada a dependência da atenuação com a frequência. Para além dos métodos referidos também foi utilizada a distribuição Nakagami, o *B-scan* e o Sonograma para analisar o cristalino. Os resultados deste estudo confirmam que a velocidade e a atenuação dos ultrassons aumentam com a progressão da catarata ($p < 0.001$). A velocidade de propagação calculada através do método que fez uso de um refletor plano, embora fosse consistente com as outras duas abordagens, apresentou valores inferiores. No que respeita à atenuação, os dois primeiros métodos utilizados apresentaram uma boa concordância ($ICC = 0.717$, $p < 0.001$). Para ambos os métodos, observou-se que o valor da atenuação se mantinha após os 120 minutos de imersão ($p > 0.05$). O cálculo da atenuação através do sinal de *backscattering* também revelou um aumento consistente. Observou-se também, e ao contrário do *B-scan*, que o parâmetro Nakagami e o Sonograma podem ser utilizados para caracterizar o cristalino. O trabalho desenvolvido mostrou que os ultrassons podem ser utilizados para caracterizar a rigidez do cristalino. O conhecimento exato da rigidez do cristalino contribuirá para o aumento dos níveis de segurança da cirurgia de facoemulsificação da catarata.

Palavras Chave (Tema): Catarata, cristalino, facoemulsificação.

Palavras Chave (Tecnologias): Ultrassons, velocidade, atenuação, *backscattering*.

Abstract

A cataract is a clouding or opacity of the normally transparent crystalline lens of the eye. It affects more than 20 million people worldwide and it is the leading cause of vision loss. The phacoemulsification is the mostly used surgical procedure to extract cataract and recover visual acuity. The inadequate phacoemulsification energy can disrupt the posterior lens capsule, and among other complications, cause a significant loss of the corneal endothelial cells. Thus, an optimal phacoemulsification energy is demanded for safety cataract removal. It is well established that the energy value is determined by the cataract hardness.

Non-invasive ultrasounds techniques have been used to assess the cataract hardness and characterize its type and severity. For that goal, in this work, cataracts were artificially induced in porcine lens *in vitro* and ultrasound parameters, as the lens propagation velocity and attenuation have been computed. For velocity quantification three approaches were considered: the time of flight between the lens capsule, the frequency interference and the time of flight considering a plan reflector. The attenuation was also computed considering three methodologies: the spectral ratio of the surface and backward lens signals, the spectral ratio between echo signals from a reflector with and without inserted lens, and the frequency downshift of backscattered signal. Additionally, the attenuation versus frequency dependence were analysed. Other methods were used to analyse the crystalline lens, namely the Nakagami distribution, the B-scan and the Sonogram. The results of this study showed that the velocity and the attenuation of the ultrasounds increases with the increase of the lens hardness ($p < 0.001$). The velocity method that makes of a reflector, although in agreement with the first two ones, provided lower velocities. The first two methods for the attenuation assessment in normal and cataractous lens, showed a good agreement ($ICC = 0.717$, $p < 0.001$). For both methods was observed an establish of ultrasound attenuation after 120 minutes for both groups ($p > 0.05$). The center frequency downshift measurement approach also provided the attenuation coefficient calculation along the transducer beam in the lens. It was also, observed that the Nakagami parameter and sonogram, unlike the B-scan, could be used to characterize the cataract. The developed work demonstrated that the ultrasound can be non-invasively used to characterize the lens hardness. The lens hardness knowledge, certainly will contribute to improve the security of the cataract surgery.

Keywords (Theme): Cataract, crystalline, phacoemulsification.

Keywords (Technology): Ultrasound, velocity, attenuation, backscattering.

Índice

1	Introdução.....	1
1.1	Apresentação do projeto	1
1.2	Estrutura da tese	2
1.3	Contribuições científicas	3
2	Descrição teórica.....	5
2.1	Anatomia do olho	5
2.2	Catarata.....	8
2.3	Cirurgia de Facoemulsificação	15
2.4	Ultrassons: Considerações gerais	17
3	Estado da arte	25
4	Caracterização da catarata	31
4.1	Indução de catarata <i>in-vitro</i>	31
4.2	Configuração experimental.....	34
4.3	Análise estatística	37
4.4	Velocidade de Propagação	39
4.4.1	Análise no tempo	40
4.4.2	Análise em frequência.....	41
4.4.3	Uso de um refletor plano	43
4.4.4	Discussão e conclusões	46
4.5	Atenuação acústica.....	48
4.5.1	Análise usando os sinais das interfaces.....	50
4.5.2	Análise do <i>backscattering</i>	65
4.5.3	Discussão e conclusões	73
4.6	Distribuição de Nakagami.....	77
4.7	B-scan	80
4.8	Sonograma.....	82
5	Conclusões.....	85

5.1	Conclusões gerais	85
5.2	Trabalhos futuros.....	88
	Bibliografia	89
	Apêndice A - Ultrasound Techniques for Lens Hardness Characterization: A comparison Study	94
	Apêndice B - Fluxogramas.....	98
	Apêndice C - Tabelas	103

Índice de Figuras

<i>Figura 2.1 – Anatomia do olho humano.....</i>	<i>6</i>
<i>Figura 2.2 – Variação da capacidade de acomodação em função da distância e da idade.....</i>	<i>7</i>
<i>Figura 2.3 – Representação esquemática das células fibrosas do núcleo e do córtex do cristalino.</i>	<i>8</i>
<i>Figura 2.4 – Apresentação da dispersão da luz no cristalino sem e com catarata.....</i>	<i>9</i>
<i>Figura 2.5 – Fatores que levam à formação excessiva de espécies reativas de oxigênio.....</i>	<i>11</i>
<i>Figura 2.6 – Imagem obtida de uma catarata cortical com Lâmpada de Fenda.....</i>	<i>12</i>
<i>Figura 2.7 – Representação da localização da catarata nuclear (CN), catarata cortical anterior (CCA), catarata cortical posterior (CCP) e da catarata subcapsular posterior (CSP).....</i>	<i>13</i>
<i>Figura 2.8 – Técnica de facoemulsificação onde (1) corresponde à emulsificação e aspiração do cristalino, (2) corresponde à introdução da LIO e (3) ao desdobramento da LIO no espaço intracapsular.....</i>	<i>16</i>
<i>Figura 2.9 – Técnica de pulso-eco.</i>	<i>18</i>
<i>Figura 2.10 – Origens do sinal refletido, reflexão especular e difusa.....</i>	<i>20</i>
<i>Figura 2.11 – Propagação dos sinais na fronteira entre dois meios distintos.....</i>	<i>21</i>
<i>Figura 2.12 – Modos mais frequentes de apresentar a informação obtida por ultrassons. Esquerda: Modo A; Centro: Modo B; Direita: Modo M.....</i>	<i>22</i>
<i>Figura 2.13 – Comparação entre a resolução axial e a penetração dos ultrassons em função da frequência utilizada.....</i>	<i>23</i>
<i>Figura 3.1 – Imagens padrão do sistema LOCS III.....</i>	<i>26</i>
<i>Figura 4.1 – Processo de remoção do cristalino.....</i>	<i>32</i>
<i>Figura 4.2 – Cristalino com catarata inicial (esquerda) e com catarata total (direita).....</i>	<i>33</i>
<i>Figura 4.3 – Catarata traumática.....</i>	<i>33</i>
<i>Figura 4.4 – (a) Equipamento utilizado na caracterização dos cristalinos; (b) esquemático da configuração experimental.....</i>	<i>34</i>
<i>Figura 4.5 – Transdutor GE IAP-F25. 3.1. Dimensões em milímetros.</i>	<i>35</i>
<i>Figura 4.6 – Apresentação da forma de onda, nos domínios do tempo e frequência, de um sinal de eco. A verde está representada a largura de banda a -3dB do transdutor.</i>	<i>36</i>

<i>Figura 4.7 – Representação do sinal obtido de um cristalino, onde é visível o eco cápsula anterior (A) e o eco da cápsula posterior (B).</i>	40
<i>Figura 4.8 – Velocidade de propagação ao longo do tempo de imersão. Valores obtidos através da análise no domínio do tempo.</i>	41
<i>Figura 4.9 – Velocidade de propagação ao longo do tempo de imersão. Valores obtidos através da análise em frequência.</i>	42
<i>Figura 4.10 – Representação dos tempos de voo na análise temporal através do refletor.</i>	43
<i>Figura 4.11 – Representação dos tempos de voo na análise temporal através do refletor.</i>	45
<i>Figura 4.12 – Velocidade de propagação ao longo do tempo de imersão. Valores obtidos através da análise fazendo uso de um refletor plano.</i>	45
<i>Figura 4.13 – Representação do diagrama de ecos no interior de um cristalino.</i>	50
<i>Figura 4.14 – Representação do eco da cápsula anterior (A) e da cápsula posterior (B).</i>	51
<i>Figura 4.15 – Representação esquemática do sinal de transmissão (I_0), dos ecos da cápsula anterior (A_1) e posterior (A_2) e dos coeficientes de transmissão (T) e reflexão (R).</i>	52
<i>Figura 4.16 – Valor do produto dos coeficientes de transmissão em função da impedância do cristalino.</i>	54
<i>Figura 4.17 – Representação temporal dos ecos da cápsula anterior e posterior do cristalino sem catarata.</i>	55
<i>Figura 4.18 – Ecos da cápsula anterior (a) e posterior (b) para um cristalino sem catarata.</i> ...55	
<i>Figura 4.19 – Espectros em frequência dos ecos das cápsulas: (a)(b) aquisição conjunta dos sinais; (c)(d) aquisição dos mesmos sinais, separadamente.</i>	56
<i>Figura 4.20 – Sinal do eco da cápsula anterior com componente DC.</i>	57
<i>Figura 4.21 – Sinal do eco da cápsula anterior com valor médio da componente DC em torno de zero.</i>	57
<i>Figura 4.22 – Desvio em frequência do espectro da cápsula anterior (a) e da cápsula posterior (b) para diferentes tempos de imersão.</i>	58
<i>Figura 4.23 – Diferença logarítmica entre os espectros da cápsula anterior e posterior ao longo do tempo de imersão de um cristalino.</i>	58
<i>Figura 4.24 – Representação da média das regressões lineares obtidas da diferença logarítmica entre os espectros da cápsula anterior e posterior ao longo do tempo de imersão.</i> 59	
<i>Figura 4.25 – Atenuação ao longo do tempo de imersão considerando os ecos da face anterior e posterior.</i>	60

<i>Figura 4.26 – Propagação dos ultrassons utilizando um refletor.</i>	<i>60</i>
<i>Figura 4.27 – Espectros em amplitude para um cristalino ao longo do tempo de imersão.</i>	<i>62</i>
<i>Figura 4.28 – Diferença logarítmica entre os espectros com e sem o cristalino colocado na solução, ao longo do tempo de imersão.</i>	<i>63</i>
<i>Figura 4.29 – Evolução das características dos cristalinos em termos da média das regressões lineares ao longo do tempo de imersão.</i>	<i>63</i>
<i>Figura 4.30 – Atenuação no cristalino com recurso a um refletor ao longo do tempo de imersão.</i>	<i>64</i>
<i>Figura 4.31 – Sinal da cápsula anterior e da região backscattering com 3mm de extensão.</i>	<i>67</i>
<i>Figura 4.32 – Janela de Hanning utilizada para amostrar o sinal.</i>	<i>68</i>
<i>Figura 4.33 – Decaimento da frequência central em função da profundidade para os diferentes tempos de imersão: (a) – 20 minutos; (b) – 60 minutos; (c) – 100 minutos; (d) – 140 minutos; (e) – 160 minutos; (f) – 180 minutos.</i>	<i>69</i>
<i>Figura 4.34 – Regressão linear do decaimento da frequência central em função da profundidade para os diferentes tempos de imersão.</i>	<i>70</i>
<i>Figura 4.35 – Coeficientes de atenuação ao longo do tempo de imersão considerando o backscattering do sinal.</i>	<i>71</i>
<i>Figura 4.36 – Dependência da atenuação com a frequência ao longo do tempo de imersão.</i>	<i>72</i>
<i>Figura 4.37 – Valores de β ao longo do tempo de imersão.</i>	<i>72</i>
<i>Figura 4.38 – Parâmetro de escala, Ω, em função do tempo de imersão.</i>	<i>78</i>
<i>Figura 4.39 – Parâmetro m de Nakagami em função do tempo de imersão.</i>	<i>79</i>
<i>Figura 4.40 – B-scan do cristalino com catarata total.</i>	<i>80</i>
<i>Figura 4.41 – Sonograma do cristalino.</i>	<i>82</i>
<i>Figura 4.42 – Sonograma de um cristalino sem catarata (esquerda) e com catarata total (direita).</i>	<i>83</i>
<i>Figura B.1 – Fluxograma do procedimento efetuado para calcular a velocidade de propagação considerando a diferença em frequência.</i>	<i>98</i>
<i>Figura B.2 – Fluxograma do procedimento efetuado para calcular atenuação através da face anterior e posterior do cristalino</i>	<i>99</i>
<i>Figura B.3 – Fluxograma do procedimento efetuado para calcular a atenuação com recurso a um refletor plano.</i>	<i>100</i>

Figura B.4 – Fluxograma do procedimento efetuado para calcular a atenuação através do sinal proveniente de backscattering.101

Figura B.5 – Fluxograma do procedimento efetuado para calcular os parâmetros da distribuição de Nakagami.102

Índice de Tabelas

<i>Tabela 4.1 – Características do transdutor utilizado.....</i>	<i>35</i>
<i>Tabela 4.2 – Densidade e velocidade de propagação dos ultrassons em alguns materiais, tecidos e órgãos.</i>	<i>39</i>
<i>Tabela 4.3 – Profundidade de penetração em função da frequência de inspeção.</i>	<i>48</i>
<i>Tabela 4.4 – Atenuação média em diferentes tecidos.</i>	<i>49</i>
<i>Tabela C.1 – Valores de significância (p-values) obtidos através do teste de Wilcoxon entre os vários tempos de imersão considerando a velocidade de propagação.</i>	<i>103</i>
<i>Tabela C.2 – Valores de significância (p-values) obtidos através do teste de Wilcoxon entre os diferentes tempos de imersão considerando a atenuação.</i>	<i>103</i>

Acrónimos

CCA	Catarata cortical anterior.
CCP	Catarata cortical posterior.
CN	Catarata nuclear.
CSP	Catarata subcapsular posterior.
dB	Decibéis.
df	Distância focal.
Di	Dioptrias.
FFT	Transformada rápida de Fourier (<i>fast Fourier transform</i>).
f_c	Frequência central.
ERO	Espécies reativas de oxigênio.
ECCE	<i>Extracapsular cataract extraction.</i>
ICCE	<i>Intracapsular cataract extraction.</i>
ICC	<i>Intraclass correlation coefficient.</i>
LIO	Lente intraocular.
LB	Largura de banda.
LOCS	<i>Lens opacities classification system.</i>
PRF	<i>Pulse repetition frequency.</i>
RF	Radiofrequência.

1 Introdução

Este capítulo tem como objetivo apresentar a dissertação realizada no âmbito do projeto de Mestrado em Engenharia Biomédica. Para o efeito, são apresentadas as seguintes secções: apresentação do projeto, estrutura da tese e contribuições científicas.

1.1 Apresentação do projeto

A catarata é um problema oftalmológico que afeta milhares de pessoas em todo o Mundo. Segundo a Organização Mundial da Saúde a catarata relacionada com a idade é a maior causa de cegueira, sendo responsável por 48% da cegueira a nível mundial [1]. Os dados apresentados pelo Ministério da Saúde Português revelam que a cirurgia da catarata representa mais de 80% das cirurgias oftalmológicas realizadas nas unidades públicas de saúde.

A identificação precoce e a classificação objetiva da catarata assumem extrema importância no prognóstico e tratamento da mesma. No tratamento da catarata a facoemulsificação é o procedimento cirúrgico mais comum. Este procedimento, faz uso de um dispositivo de ultrassons para fragmentar o cristalino em pequenos pedaços que são posteriormente aspirados. A seleção adequada do nível de energia acústica para

emulsificação da catarata está diretamente relacionada com a sua dureza. O cálculo da energia ótima de facoemulsificação assume grande importância para evitar lesões no endotélio corneano, nos tecidos adjacentes, ou a ruptura da cápsula posterior do cristalino. Estes danos podem prejudicar gravemente a visão, podendo levar até ao estado de cegueira [2, 3].

O objetivo principal deste trabalho de projeto de mestrado é a caracterização de cristalinos com e sem catarata induzida com recurso a técnicas por ultrassons, com o intuito de obter um método de identificação preciso do estado do cristalino. A componente experimental deste trabalho de projeto foi realizada e testada no Laboratório de Tecnologia de Materiais Elétricos e Ultrassons do Departamento de Eletrotécnica e Computadores da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra.

1.2 Estrutura da tese

A tese está organizada em cinco capítulos. O primeiro capítulo apresenta a dissertação elaborada no âmbito do projeto de Mestrado em Engenharia Biomédica. No segundo capítulo, descrição teórica, é feita uma revisão dos conceitos envolvidos no trabalho desenvolvido.

O estado da arte é apresentado no terceiro capítulo, que tem como propósito apresentar os atuais métodos de caracterização da catarata. Os métodos referidos assentam em três abordagens diferentes: a avaliação baseada na observação de imagens com lâmpada de fenda e retroiluminação; a avaliação computacional com recurso a algoritmos de processamento de imagem; e a avaliação baseada na inspeção por ultrassons.

O quarto capítulo, designado por caracterização da catarata, apresenta a implementação de diferentes métodos de caracterização da catarata com recurso a técnicas por ultrassons. Este capítulo divide-se em oito secções: indução da catarata, que explica os métodos de indução e simulação dos diferentes tipos e estádios de catarata; configuração experimental, que foi utilizada na caracterização dos cristalinos por ultrassons; análise estatística, onde são descritos os diferentes testes estatísticos usados; velocidade de propagação, que apresenta diferentes técnicas para avaliar o estado do cristalino através da velocidade de propagação dos ultrassons; atenuação acústica, que expõe e desenvolve a caracterização do cristalino através da atenuação por

ultrassons; distribuição de Nakagami, que tem por base uma distribuição estatística dos ecos obtidos para caracterização do cristalino; *B-scan*, que apresenta um corte seccional do cristalino através do *modo brilho*; sonograma, que realiza o mapeamento dos sinais do cristalino obtidos no domínio da frequência.

Por fim, no último capítulo, conclusões, é feita a revisão do trabalho desenvolvido, a consolidação dos objetivos propostos e o trabalho que poderá ser desenvolvido no futuro.

1.3 Contribuições científicas

O trabalho descrito neste documento resultou num artigo científico que irá ser apresentado na conferência IEEE *International Ultrasonics Symposium Proceedings* em Outubro de 2012, em Dresden na Alemanha. Uma cópia do artigo encontra-se no apêndice A.

2 Descrição teórica

Neste capítulo é apresentada a base teórica para compreender o trabalho desenvolvido no âmbito do projeto de mestrado e está dividido em quatro secções. A primeira descreve sucintamente a anatomia do olho. A segunda secção, catarata, refere-se ao processo de formação de catarata e aos diferentes estádios de evolução da doença. A secção cirurgia de facoemulsificação descreve o atual procedimento cirúrgico para remoção da catarata. O capítulo finaliza com a secção ultrassons: considerações gerais, onde é apresentado um breve resumo desta tecnologia.

2.1 Anatomia do olho

O olho humano é um órgão quase esférico que mede cerca de 2,5cm de diâmetro, pesa entre 7 e 8g e tem um volume aproximado de 3cm^3 . Está alojado numa cavidade óssea do crânio e move-se pela ação conjunta de seis músculos [4].

O globo ocular é formado por três camadas, ilustradas na Figura 2.1. A camada exterior, visivelmente branca, é denominada esclerótica e tem uma espessura média de 1mm. A esclerótica é constituída pela córnea, esclera e limbo esclero-corneano. A camada média, denominada coróide, é composta por uma membrana rica em vasos

sanguíneos que nutrem o olho. A íris, o tecido pigmentado que dá a vulgar cor ao olho, define a entrada de luz no olho, através do orifício pupilar, orifício central que age como um diafragma, controlando a quantidade de luz que entra no olho. O diâmetro da pupila é controlado por dois músculos, o esfíncter pupilar e o dilatador da pupila, que têm inervação parassimpática e simpática respectivamente. A terceira camada, interna, é constituída pela retina, responsável pelo início do processamento neurossensorial da visão [5].

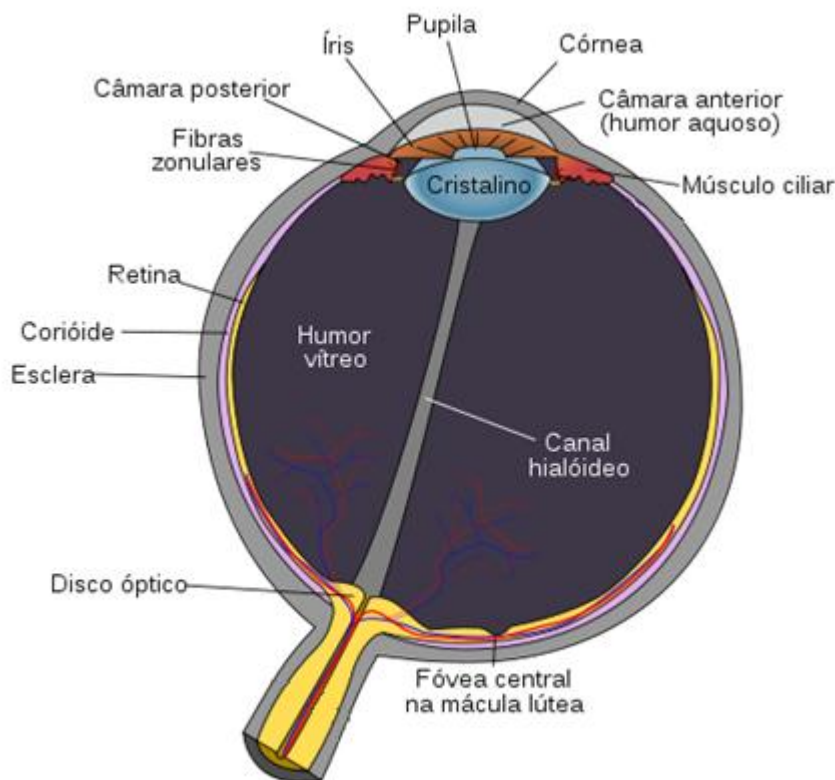


Figura 2.1 – Anatomia do olho humano. Adaptado de [6].

O cristalino tem uma forma biconvexa e é um dos componentes óticos do olho com poder refrativo, funciona como uma lente convergente e tem como principal função, focar a imagem de objetos, distantes ou próximos, na retina. Este mecanismo de focagem designa-se por acomodação que, apesar de ser um ato de reflexo, pode, também, ser controlado conscientemente. Nos humanos a variação máxima da potência ótica do cristalino é de aproximadamente 14 dioptrias (Di). Para além do cristalino, a

córnea também poder refrativo, cerca de 44 dioptrias, fazendo com que o poder total refrativo do olho seja aproximadamente 58 dioptrias.

O mecanismo de acomodação diminui com o avanço da idade. O olho humano jovem pode mudar o foco de uma distância maior que 5 metros, considerado o infinito óptico, até 7cm próximo do olho em 350 milissegundos [7]. Isto só é possível devido a uma redução na tensão zonular induzida pela contração dos músculos ciliares [8]. O movimento realizado pelos músculos ciliares, e a conseqüente alteração da forma do cristalino, deve fazer os raios luminosos convergirem exatamente sobre a retina, nem antes nem depois, casos em que a imagem deixaria de ser nítida. No primeiro gráfico da Figura 2.2 (esquerda), podemos observar a variação da acomodação com a distância ao objeto observado. À medida que o ser humano envelhece, o cristalino perde flexibilidade, os músculos ciliares têm cada vez mais dificuldade em alterar a forma do cristalino. A perda da capacidade de acomodação com a idade chama-se presbiopia. No segundo gráfico da Figura 2.2 (centro) está representada a perda da capacidade de acomodação ao longo da idade. Como consequência da limitação desta capacidade o ponto próximo¹ irá variar, ou seja, a distância mínima ao objeto observado capaz de permitir uma visão nítida irá aumentar. A relação entre a idade e o ponto próximo está representada no último gráfico da Figura 2.2 (direita).

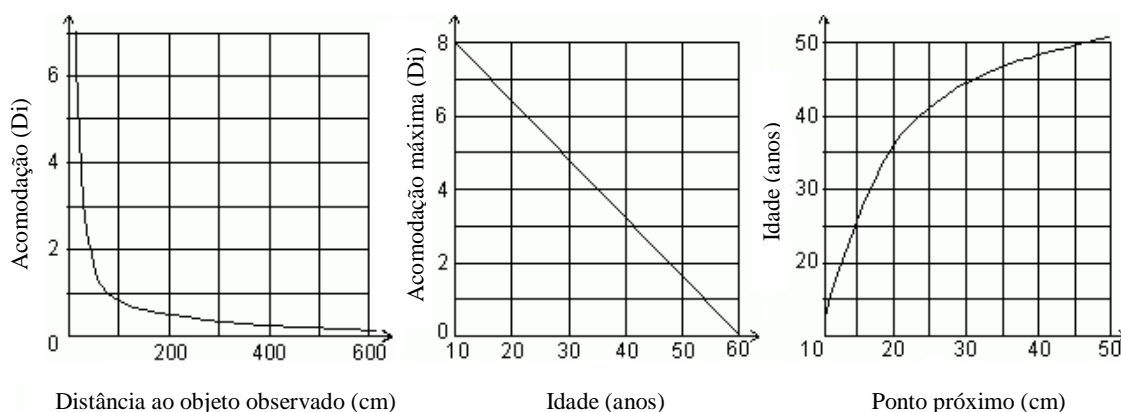


Figura 2.2 – Variação da capacidade de acomodação em função da distância e da idade. Adaptado de [9].

O cristalino funciona também como divisor do interior do globo ocular, diferenciando o humor aquoso do espaço intraocular [10].

¹ Ponto mais próximo do olho, em que a visão ainda se mantém nítida.

2.2 Catarata

O cristalino é uma estrutura intraocular transparente e, biconvexa, que tem a função de focar o feixe luminoso na retina. Possui uma cápsula de colagénio com interstícios de mucopolissacáridos cujas propriedades elásticas permitem a alteração da sua forma através da força exercida pelos músculos ciliares [11]. Um cristalino maduro apresenta uma compactação hexagonal com longas células fibrosas, que possuem cerca de 10mm de comprimento e estão dispostas de forma concêntrica, como ilustrado na Figura 2.3.

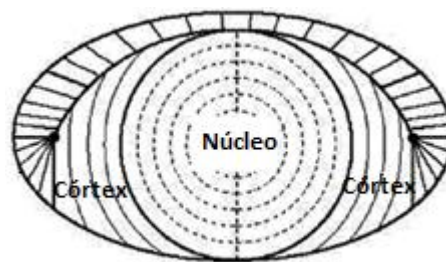


Figura 2.3 – Representação esquemática das células fibrosas do núcleo e do córtex do cristalino. Adaptado de [12].

A transparência do cristalino deve-se à sua complexa arquitetura e à sua composição proteica única. Cerca de 90% do cristalino humano é formado por proteínas do tipo α , β e γ , que não podem ser repostas [13]. Estas proteínas estão compactadas e dispostas em altas concentrações ($>0.3\text{gml}^{-1}$) nas células fibrosas do cristalino. Com o tempo, as proteínas mudam a sua configuração e acumulam danos devido a alterações provocadas por oxidação, desaminação² e clivagem³ [12, 14].

A acumulação de lesões ao longo do tempo conduz à modificação do cristalino, este passa de transparente a opaco e a cor amarelada. A esta alteração da transparência designa-se por catarata.

²Eliminação do grupo amina dos aminoácidos.

³Quebra das ligações peptídicas entre os aminoácidos das proteínas.

A catarata tem um impacto direto na visão humana. No lado direito da Figura 2.4, é apresentado o efeito que a catarata tem na dispersão da luz e o conseqüente impacto na qualidade da visão, comparativamente ao lado esquerdo da figura, em que não há catarata.

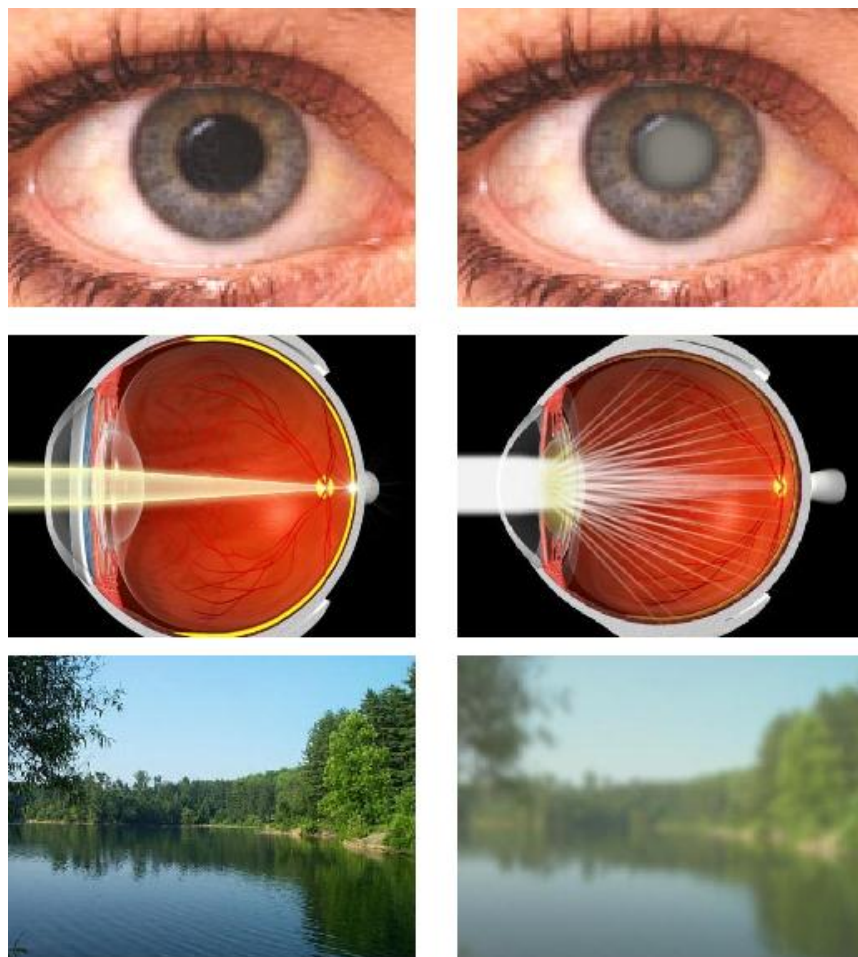


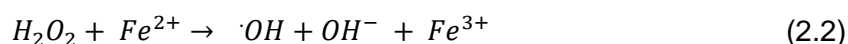
Figura 2.4 – Apresentação da dispersão da luz no cristalino sem e com catarata.

Apesar da catarata ser uma doença amplamente investigada pela comunidade científica, o seu processo de formação não é ainda claro. No entanto, na bibliografia há estudos que mostram que proteínas extraídas de cristalinos com catarata, revelam a presença de uma grande variedade de modificações irreversíveis causadas por stress oxidativo. Estas modificações devem-se à presença de espécies reativas de oxigénio (ERO) que podem danificar, de forma direta ou indireta, todas as biomoléculas, inclusive as proteínas. As ERO incluem compostos da família do oxigénio: o peróxido de hidrogénio (H_2O_2), o anião superóxido (O_2^-), ou os radicais hidroxilo ($\cdot OH$).

A redução completa do O_2 por adição de quatro elétrons origina duas moléculas de água, um composto estável que não é ERO, mas que contribui para o desarranjo arquitetónico da estrutura proteica. Outro tipo de redução do oxigénio molecular conduz à criação do superóxido ($O_2^{\cdot -}$), que é a primeira espécie produzida em muitas cascatas oxidativas biológicas. Este elemento é moderadamente reativo com a maioria dos compostos biológicos, mas em solução aquosa, reage rapidamente para formar peróxido de hidrogénio, indicado na equação (2.1) [15],



O H_2O_2 é um dos componentes existentes no olho humano, sendo moderadamente reativo, com um tempo de vida relativamente longo e pode difundir-se a partir do local de produção através das membranas celulares. Este composto pode reagir com iões metálicos reduzidos como o ferro, sofrendo clivagem homolítica⁴ e dando origem a um radical hidroxilo altamente reativo [16],



Em sistemas biológicos, os iões metálicos são vulgarmente reduzidos pelo superóxido, ácido ascórbico, ou uma variedade de outros agentes redutores. O ciclo *redox* envolvendo reduções repetidas dos iões metálicos, associado à produção contínua de radicais hidroxilo, assegura que apenas quantidades específicas do metal sejam usadas para produzir estes radicais. Todas as ERO são produzidas como consequência do metabolismo normal. Quando qualquer uma destas espécies reativas de oxigénio é produzida em quantidades descontroladas pode danificar proteínas, o ADN e os lípidos da membrana celular.

⁴Clivagem de uma ligação produzindo dois radicais.

A produção excessiva das ERO pode ter origem num grande número de diferentes mecanismos, como mostra a Figura 2.5. Estes processos moleculares fazem parte da biologia do envelhecimento sendo que, os mecanismos celulares e moleculares implicados no processo de cataratogénese não estão, ainda, identificados [17, 18].

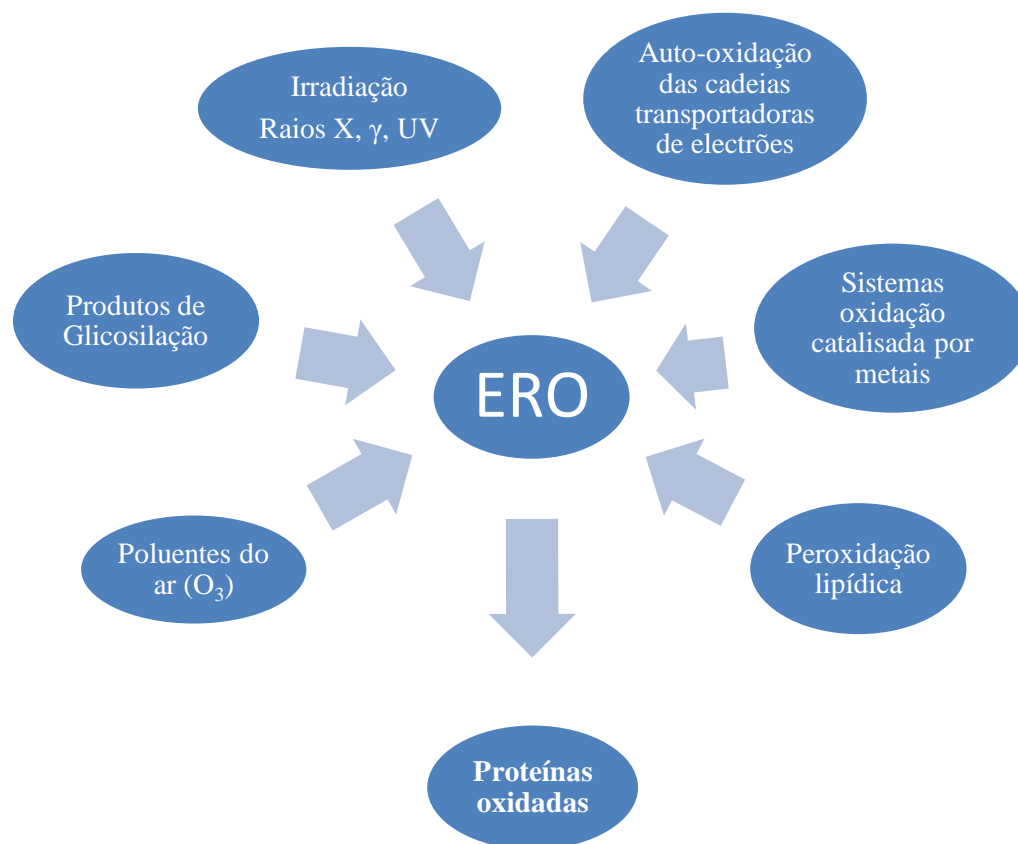


Figura 2.5 – Fatores que levam à formação excessiva de espécies reativas de oxigênio (ERO).

A catarata pode ser classificada de acordo com a sua causa, localização e estágio de evolução. A causa da catarata pode ser primária, de origem hereditária, ou secundária, quando adquirida. Existem vários fatores que estão na origem da catarata secundária, entre os quais, a má nutrição e a exposição à poluição ou radiação ultravioleta, na gama dos 280-320nm. A hipocalcémia e a diabetes *mellitus* também estão identificadas como fatores de risco associados ao aparecimento de catarata [19].

No que diz respeito à localização da catarata, a classificação poderá ser, nuclear, cortical, subcapsular, anterior ou posterior, e sutural. A catarata nuclear forma-se no núcleo do cristalino e expande-se para a periferia. Por sua vez, a catarata cortical tem origem na região do córtex do cristalino podendo localizar-se mais concretamente na região anterior (ver Figura 2.6), posterior ou equatorial.

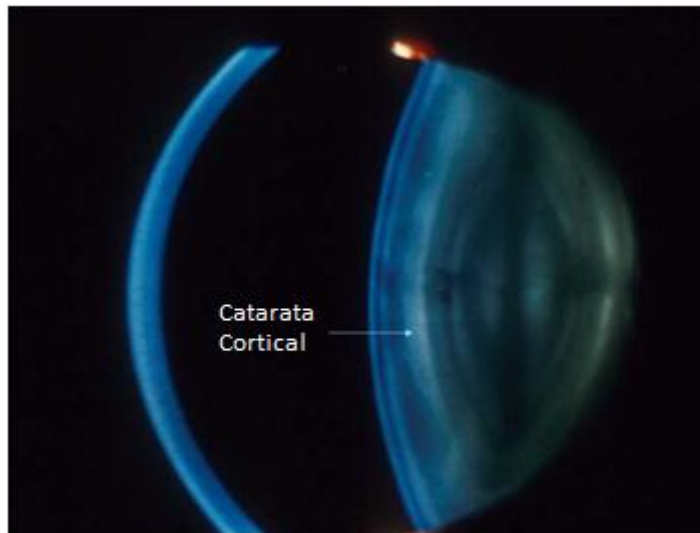


Figura 2.6 – Imagem obtida de uma catarata cortical com Lâmpada de Fenda. Adaptado de [12].

A catarata subcapsular forma-se na região contígua à cápsula do cristalino, podendo designar-se por catarata subcapsular anterior ou posterior. Esta designação tem como base a sua localização ser relativa à cápsula anterior ou posterior do cristalino. Pode ainda existir catarata sutural, que se designa assim, quando a opacificação do cristalino acontece nas suas linhas de sutura. Estas linhas surgem quando o cristalino, durante a sua formação estrutural, se desenvolve a partir da região equatorial produzindo várias camadas. A junção destas camadas origina as linhas de sutura cuja aparência, da posição vertical do plano anterior, é em forma de Y.

As localizações mais comuns da formação de catarata são: o núcleo, a região cortical e a região posterior subcapsular, tal como ilustrado na Figura 2.7 [12].

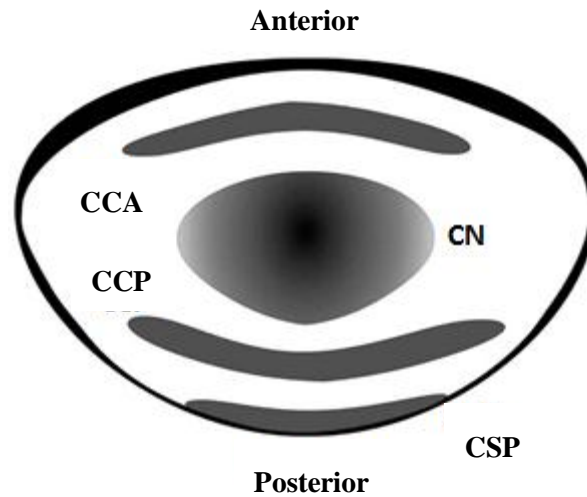


Figura 2.7 – Representação da localização da catarata nuclear (CN), catarata cortical anterior (CCA), catarata cortical posterior (CCP) e da catarata subcapsular posterior (CSP). Adaptado de [19].

A catarata pode ainda ser classificada de acordo com a sua incidência por idade do doente, designando-se por catarata congénita (quando tem origem durante o desenvolvimento fetal), juvenil (quando surge em idades jovens) e senil (quando surge em idades superiores aos 50 anos). A catarata senil é atualmente o tipo mais comum de catarata, devido ao aumento da esperança média de vida [21, 22].

A catarata também poderá ser classificada de acordo com o seu estágio de evolução podendo assumir quatro designações: incipiente, quando existe opacidade ligeira, a acuidade visual não é afetada e o reflexo do fundo do olho está presente; imatura, quando está presente opacidade difusa, áreas de densidade variável, o reflexo de fundo está presente e há algum comprometimento da acuidade visual; matura, nos casos de presença de opacidade densa ou total do cristalino, o reflexo de fundo está ausente e não existe acuidade visual; hiper-matura, nos casos mais severos, ou seja, quando existe irregularidades no cristalino e a possibilidade das proteínas de cristalino sofrerem liquefação e extravasarem a cápsula, induzindo uveíte⁵ [11].

⁵ Inflamação da úvea ou trato uveal. A úvea é constituída pela íris, corpo ciliar e coróide.

Além do natural envelhecimento, a diabetes *mellitus* é uma das causas mais comuns do aparecimento de catarata, neste caso a catarata designa-se de secundária. Atualmente existem mais de 220 milhões de pessoas no mundo que sofrem de diabetes e estima-se que esse número duplique até 2030 [23]. Na diabetes *mellitus* ocorre um desequilíbrio no metabolismo dos hidratos de carbono, resultando num aumento do nível de glucose.

As fibras e células epiteliais do cristalino dependem quase exclusivamente do metabolismo da glucose para a produção de energia. Esta glucose, proveniente do humor aquoso, entra no cristalino através do processo de difusão. O processo de obtenção de energia tem início na molécula de glucose que através de fosforilação dá origem a duas moléculas de piruvato, iniciando-se a fase anaeróbica, com um rendimento energético total de 2 moléculas de ATP. Este processo ocorre no citosol (entre a membrana plasmática e o núcleo da célula) e origina o ácido láctico.

Porém, se houver um excesso de glucose, como acontece no caso da diabetes *mellitus*, irá ocorrer outro processo, a via do sorbitol, que é responsável por apenas 5% do metabolismo de glucose. O sorbitol, um álcool hidrofílico, ao não se difundir através das membranas celulares, causará um gradiente osmótico, que levará à entrada de água nas células fibrosas do cristalino. Este fenómeno causa desarranjo arquitetónico devido ao aumento do volume e consequente rutura das fibras do cristalino, formando vacúolos e originando uma catarata clinicamente evidente [24] .

Atualmente não existe nenhum medicamento antioxidante com efeito comprovado, que reverta ou retarde o processo de formação da catarata. Todavia existem estudos que apontam nesse sentido, como é o caso do estudo efetuado por Lee em 2012 que demonstrou que a cisteamina suprime a formação de catarata induzida por selenite de sódio em ratos, sugerindo que poderá ser usada como fármaco para retardar a formação da catarata [17].

2.3 Cirurgia de Facoemulsificação

Atualmente o número de cirurgias realizadas é insuficiente para dar resposta ao número de doentes em lista de espera para cirurgia da catarata. Estima-se que em 2020, devido ao aumento da esperança média de vida, 32 milhões de pessoas irão necessitar deste tipo de cirurgia [25].

Nas primeiras quatro décadas do século XX a técnica usada para remover o cristalino, denominada *Intracapsular Cataract Extraction* (ICCE), consistia em fazer um corte na região do limbo esclero-corneano ao longo de 180°, removendo posteriormente o cristalino e a respetiva cápsula. Esta técnica envolvia alguns riscos cirúrgicos, nomeadamente, a perda de humor vítreo, hemorragias, deslocamento da retina, edema macular⁶ e astigmatismo secundário⁷ [26]. Além disso, a elevada probabilidade de problemas no pós-operatório requeria que o doente ficasse hospitalizado durante muito tempo.

Após o final da segunda Guerra Mundial houve um grande desenvolvimento dos microscópios cirúrgicos permitindo que o Dr. Harold Ridley desenvolve-se a técnica *Extracapsular Cataract Extraction* (ECCE), que envolvia uma incisão menor, de aproximadamente 10 à 11mm. Nesta técnica cirúrgica era removido todo o cristalino à exceção da cápsula posterior, que era preservada. É também nesta altura que surge pela primeira vez o conceito de lente intraocular (LIO). No entanto, esta técnica não se revelou totalmente eficaz devido à dificuldade em remover a região cortical do cristalino, provocando inflamações que levavam à sua opacificação.

No início da década de 70, e em virtude dos desenvolvimentos da ECCE, surge a técnica cirúrgica da facoemulsificação [26]. Esta técnica foi um grande avanço na cirurgia da catarata, pois além de realizar cortes com um menor diâmetro, permitindo uma recuperação mais rápida do doente, utilizava um dispositivo de emulsificação através de ultrassons. A facoemulsificação possibilitou a fragmentação de todo o cristalino à exceção da cápsula posterior mantendo a diferenciação entre o humor vítreo e o espaço intraocular, sendo até a data a técnica cirúrgica convencional para remoção do cristalino com catarata.

⁶ Acumulação de fluidos e proteínas sobre ou sob a mácula.

⁷ Formato irregular da córnea ou do cristalino resultando numa imagem desfocada com vários focos.

O procedimento cirúrgico de facoemulsificação inicia-se com dois cortes de 3mm, diferenciados 180°, ao longo do limbo esclero-corneano. Devido ao pequeno tamanho da incisão, em regra geral, a cirurgia é realizada com anestesia tópica. Através de um dos cortes é injetado hialuronato de sódio a 1% para suportar e proteger o endotélio da córnea durante a facoemulsificação [27]. O passo seguinte, após injetar o hialuronato de sódio, consiste na remoção do topo da cápsula anterior de modo a ter acesso a região cortical e ao núcleo do cristalino. Seguidamente, o cirurgião usa a energia de ultrassons para fragmentar o cristalino, como ilustrado na Figura 2.8, (1). A frequência de vibração dos cristais piezoelétricos usados no facoemulsificador, em regra geral varia entre 27 e 60 kHz. Por norma, a frequência ótima para emulsificar o núcleo varia entre 35 e 45 kHz. Frequências mais baixas são menos eficientes e frequências mais altas podem causar excesso de calor, de qualquer das formas, a frequência deve ser adequada à dureza e ao tipo de catarata a extrair [28].

Após a fragmentação do cristalino é efetuada a respetiva aspiração, removendo todos os fragmentos do cristalino. Por fim, é introduzida uma lente intraocular que é enrolada e inserida por meio de um tubo, no espaço intracapsular. A LIO ao libertar-se expande-se e retoma a forma inicial, iniciando-se o processo de recuperação da visão.

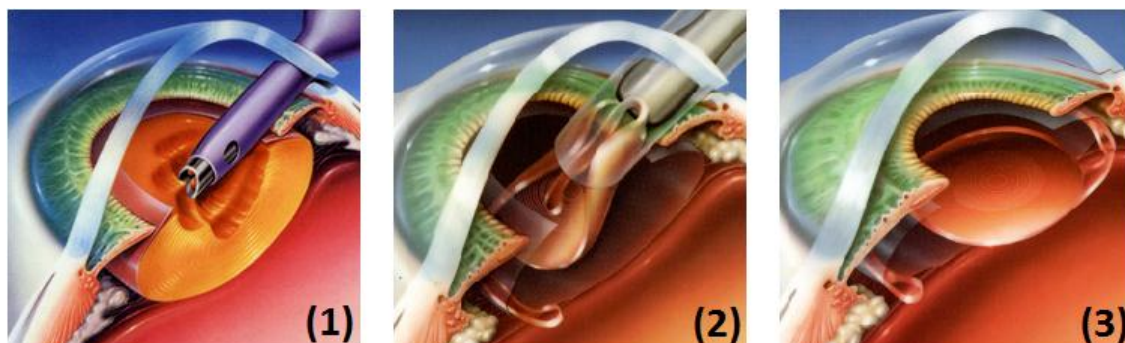


Figura 2.8 – Técnica de facoemulsificação onde (1) corresponde à emulsificação e aspiração do cristalino, (2) corresponde à introdução da LIO e (3) ao desdobramento da LIO no espaço intracapsular.

O sucesso desta técnica está relacionado com a determinação correta da dureza da catarata. Atualmente, a rigidez do cristalino é o parâmetro que proporciona a informação mais adequada para determinar o tempo, a potência e a energia necessária para emulsificar o cristalino. O facto de o endotélio corneano possuir uma densidade de

1000 células/mm² constitui um enorme desafio para os cirurgiões, uma vez que a determinação incorreta da energia ótima de facoemulsificação poderá conduzir a danos irreversíveis, nomeadamente a destruição das células do endotélio da córnea ou a destruição da cápsula posterior do cristalino [4]. O movimento inadequado do facoemulsificador poderá também contribuir para uma tensão acumulada em determinadas zonas do cristalino. Alguns autores consideram que a facoemulsificação é inapropriada para cristalinos com elevada rigidez devido ao facto de ser necessária energia mais elevada para emulsificar a catarata, e por isso existir maior probabilidade de danificar os tecidos adjacentes [29].

A evolução de novas técnicas cirúrgicas, nomeadamente o laser de fentosegundo, contribuirá para o aumento da precisão dos cortes reduzindo as complicações no pós-operatório [30, 31].

2.4 Ultrassons: Considerações gerais

As vibrações mecânicas através da matéria quando a frequência de oscilação é superior à máxima frequência audível, aproximadamente 20kHz, são designadas por ultrassons. As aplicações técnicas dos ultrassons podem ser divididas em dois grandes grupos, aplicações destrutivas e não destrutivas. Na medicina, isto pode ser entendido como terapia e diagnóstico. No primeiro caso, recorre-se ao uso da energia mecânica através da vibração para destruir, por exemplo, células cancerígenas [32]. No segundo caso, a energia transmitida é utilizada para detetar e localizar anormalidades nos tecidos.

As técnicas com recurso a ultrassons apresentam várias vantagens quando comparadas com outras técnicas de imagiologia do corpo humano. É uma tecnologia segura, não existe radiação ionizante e a maior parte dos testes são não-invasivos, permitindo a repetição dos mesmos, várias vezes, sem afetar o doente. Em comparação com a Imagiologia por Ressonância Magnética e com a Tomografia Computorizada, os ultrassons envolvem instrumentos menos complexos e de fácil transporte. Os ultrassons também permitem a visualização de tecidos moles, o que se torna difícil com a técnica de Raio-X convencional. Ao contrário de outras técnicas imagiológicas, os ultrassons permitem obter uma visualização interativa em tempo real do corpo humano [33, 34].

A técnica de pulso-eco é convencionalmente, a mais usada em imagiologia médica por ultrassons [33]. Nesta técnica, um transdutor de efeito piezoelétrico gera um sinal acústico de curta duração, em resposta a um estímulo elétrico, o qual é transmitido ao longo do corpo. Os sinais refletidos provenientes de fronteiras entre meios diferentes e os sinais objeto de dispersão nos tecidos são recebidos por este mesmo transdutor e convertidos num sinal elétrico, tal como esquematizado na Figura 2.9.

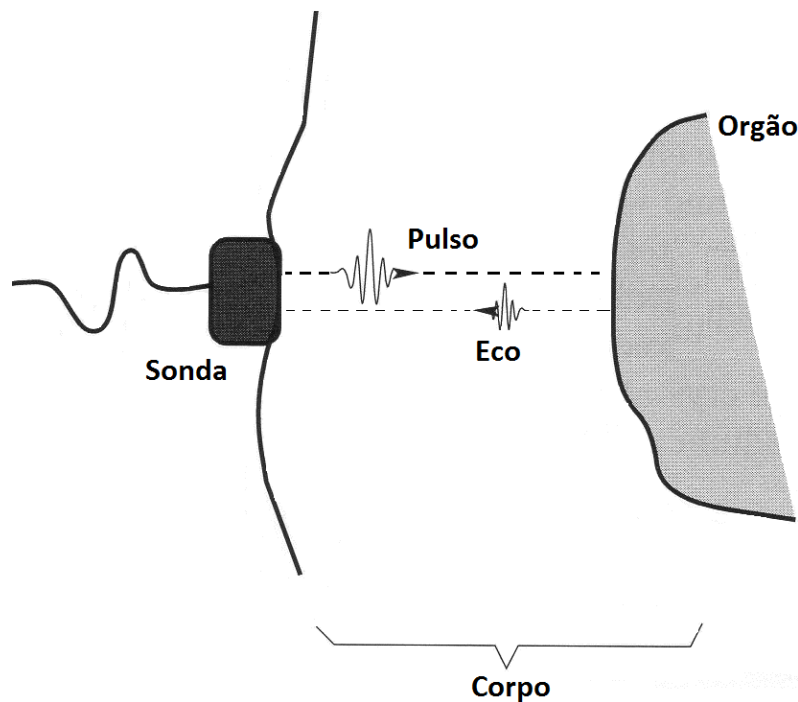


Figura 2.9 – Técnica de pulso-eco. Adaptado de [34].

Após um certo período de tempo, suficiente para receber os ecos, o pulso é retransmitido, repetindo-se o ciclo. O parâmetro que define o ciclo é denominado de *Pulse Repetition Frequency* (PRF) e varia de 1 até 10kHz em imagiologia médica.

Os transdutores, para além da frequência central (f_c), também são caracterizados pela sua largura de banda (LB). A largura de banda corresponde à gama de frequências para qual a amplitude da resposta do transdutor se situa a -3 ou -6 decibéis (dB) em relação ao seu valor máximo. A LB é calculada do seguinte modo,

$$LB = \frac{f_o - f_u}{f_c} \times 100\% \quad (2.3)$$

onde f_o e f_u correspondem às frequências superior e inferior extraídas a -3 ou a -6dB. No caso de o transdutor ser focalizado, este é ainda caracterizado por uma distância focal (df), que corresponde a distância entre o transdutor e o ponto de convergência do feixe acústico.

Um pulso é descrito pela sua frequência e amplitude. A sua velocidade de propagação num determinado meio irá depender do comprimento de onda e da frequência de oscilação, indicado na equação (2.4).

$$v = \lambda f \quad (2.4)$$

A absorção e a dispersão são os dois fenómenos responsáveis pela atenuação dos ultrassons, sendo a atenuação tanto maior quanto a frequência utilizada. Assim, a frequência de oscilação definirá a profundidade máxima de penetração. A amplitude dos ultrassons (A) em função da distância percorrida pode ser expressa da seguinte forma,

$$A = A_0 e^{-\alpha x} \quad (2.5)$$

onde α é o coeficiente atenuação no meio de propagação, A_0 é a amplitude dos ultrassons gerados pelo transdutor e x corresponde à distância percorrida pelos ultrassons.

Os sinais refletidos podem ter origem nas designadas reflexões especular e/ou difusa (*scattering*), tal como ilustrado na Figura 2.10.

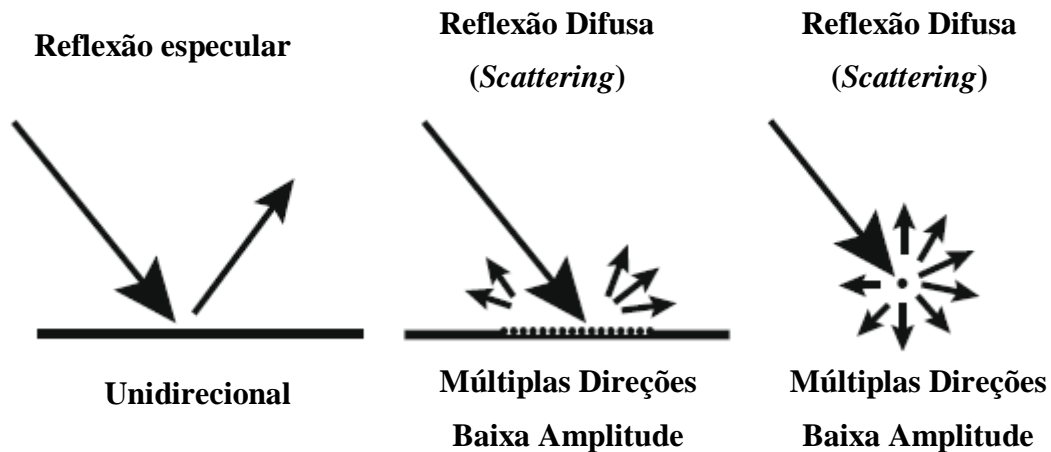


Figura 2.10 – Origens do sinal refletido, reflexão especular e difusa.

A reflexão especular ocorre quando o elemento refletor possui um tamanho muito superior ao comprimento de onda incidente [34]. A intensidade dos sinais refletidos depende da diferença de impedâncias entre os meios de propagação em causa. A impedância acústica é uma característica importante dos meios de propagação e é dada pela seguinte equação,

$$Z = \rho v \quad (2.6)$$

onde ρ é a densidade do meio de propagação e v a respetiva velocidade de propagação acústica. A relação das impedâncias entre os meios de propagação define a fração de sinal refletido e transmitido. O coeficiente de reflexão pode ser expresso da seguinte forma,

$$R = \frac{Z_2 - Z_1}{Z_2 + Z_1} \quad (2.7)$$

onde Z_1 e Z_2 são as impedâncias acústicas no meio 1 e do meio 2, respetivamente.

Por sua vez, a fração de sinal transmitido é expresso pelo coeficiente de transmissão cuja a expressão é,

$$T = \frac{2Z_2}{Z_2 + Z_1} \quad (2.8)$$

Quando os ultrassons incidem numa interface com um ângulo diferente de 90° , o ângulo do sinal refletido θ_r , é igual ao ângulo do sinal incidente θ_i , como ilustrado na Figura 2.11. Na transmissão do sinal do meio 1 para o meio 2, ocorrerá uma alteração na direção do feixe devido fenómeno de refração. A relação entre o ângulo de incidência e o ângulo de refração é dada por,

$$\frac{\sin \theta_i}{\sin \theta_t} = \frac{v_1}{v_2} \quad (2.9)$$

onde v_1 e v_2 se referem à velocidade de propagação no meio 1 e 2, respetivamente.

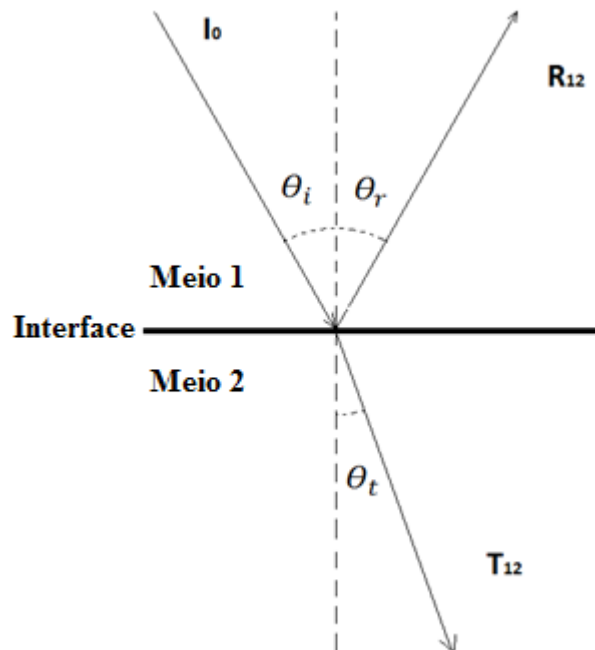


Figura 2.11 – Propagação dos sinais na fronteira entre dois meios distintos.

O mecanismo de difusão tem como resultado sinais/ecos provenientes da dispersão (*scattering*), que ocorre quando o feixe de ultrassons interage com partículas que possuem um diâmetro semelhante ou inferior ao seu comprimento de onda. Neste fenómeno, cada partícula age com uma fonte emissora de ultrassons produzindo ondas esféricas (*Principio de Huygen*) [34].

Os ecos recebidos pelo transdutor podem ser visualizados segundo três modos distintos, designadamente, modo A (modo de Amplitude), modo B (modo de Brilho) e modo M (modo de Movimento). No modo A, os ecos recebidos pelo transdutor dizem respeito à reflexões verificadas no percurso de propagação do feixe acústico. Assim, através da distância percorrida e da diferença temporal entre a emissão e a receção é possível saber a velocidade de propagação no meio. Neste modo é possível observar o movimento longitudinal de um objeto, (Figura 2.12 – esquerda). No modo B a amplitude do sinal obtida através do modo A é convertida em brilho, sendo a sua intensidade proporcional à amplitude do sinal, (Figura 2.12 – centro). Trata-se, em geral, de uma imagem 2D (*grayscale*) de um plano paralelo à direção de propagação dos sinais acústicos. Para a formação de uma imagem em tempo real é rotinamente usado um *array*⁸ de transdutores. Por fim, o modo M (modo de Movimento) apresenta o modo B em função do tempo, desta forma, é possível perceber a variação da posição do objeto ao longo do tempo, (Figura 2.12 – direita).

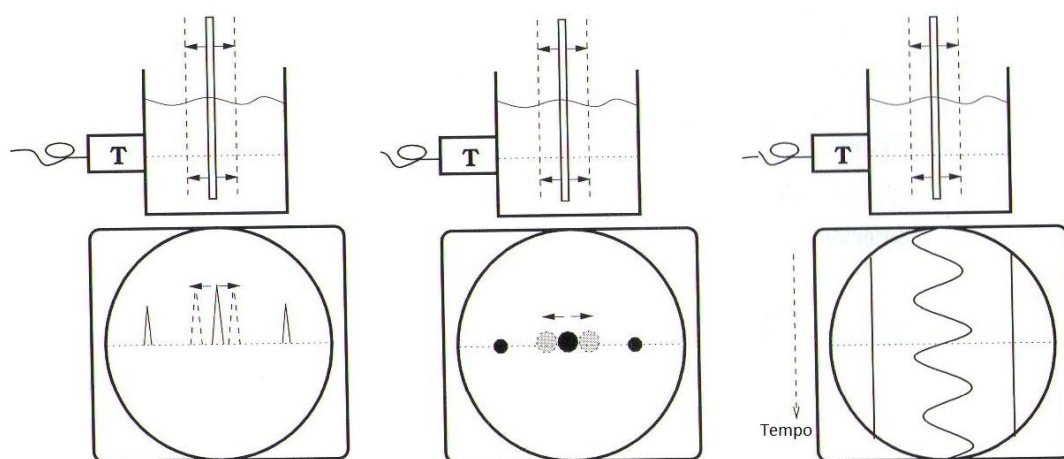


Figura 2.12 – Modos mais frequentes de apresentar a informação obtida por ultrassons. Esquerda: Modo A; Centro: Modo B; Direita: Modo M. Adaptado de [34].

⁸ Grande número de transdutores dispostos paralelamente.

A qualidade da representação dos sinais para qualquer um dos modos de visualização depende, em grande parte, da resolução axial e lateral do transdutor. A resolução axial é definida como sendo a capacidade do sistema de imagem em identificar dois objetos muito próximos ao longo da profundidade de propagação. Esta resolução será tanto maior quanto menor for a largura do pulso (comprimento de onda) emitido pelo transdutor, o que implica o uso de frequências elevadas, (Figura 2.13-linha contínua). No entanto, as altas frequências são mais atenuadas conferindo uma menor penetração no tecido, (Figura 2.13-tracejado). Por esta razão, são usados transdutores com frequências entre 10 e 15 MHz para obter imagens superficiais e transdutores com frequências menores para analisar estruturas internas. A resolução lateral, traduz-se pela capacidade do sistema de imagem em distinguir dois objetos próximos, num plano perpendicular à direção de propagação. A resolução lateral é tanto maior quanto menor for a largura do feixe. Assim, a maior resolução lateral é conseguida na região do foco.

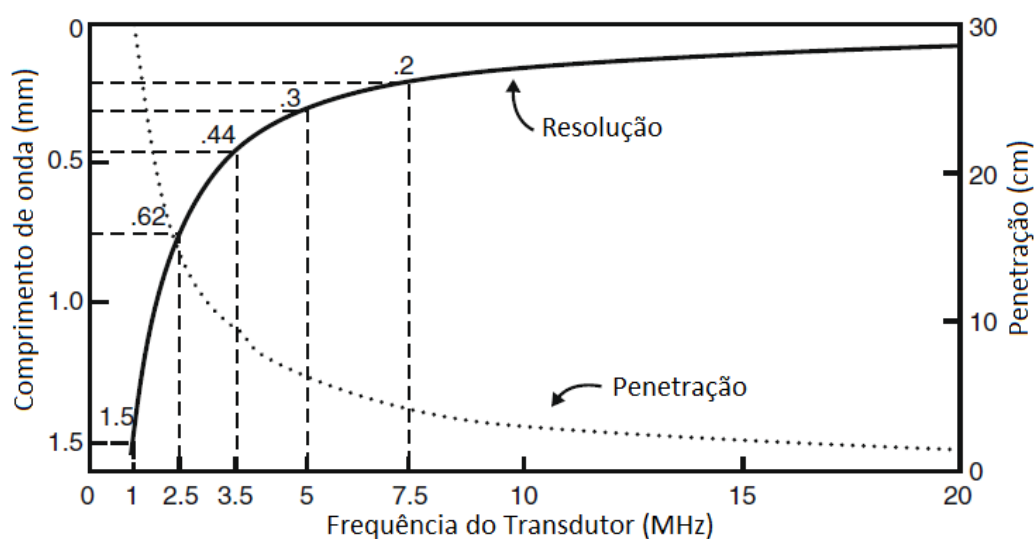


Figura 2.13 – Comparação entre a resolução axial e a penetração dos ultrassons em função da frequência utilizada. Adaptado de [33].

3 Estado da arte

O método mais comum para aferir o estado da visão é o teste de acuidade visual. É possível encontrar na literatura alguns estudos que relacionam a acuidade visual com o tipo e grau de severidade da catarata. No entanto, os testes de acuidade visual não permitem inferir acerca da rigidez do cristalino [35, 36].

Clinicamente, o diagnóstico da catarata é feito com recurso a lâmpada de fenda ou biomicroscópio. É possível encontrar na literatura vários sistemas de classificação, sendo os mais conhecidos o *Lens Opacities Classification System III* (LOCS III) [37], o *Oxford Clinical Cataract Classification System* [38], o *Wiscosin Grading System* [39], o *World Health Organization Cataract Grade* [40] e o *Emery Classification* [41]. Os sistemas de classificação baseiam-se na comparação das imagens obtidas do cristalino com imagens padrão, onde estas últimas apresentam diferentes estágios de catarata.

O sistema convencionalmente usado é o sistema de classificação LOCS III, resumido na Figura 3.1. Este sistema foi desenvolvido por Chylack e surgiu de uma adaptação ao sistema de classificação LOCS II [42]. O sistema LOCS II, contém imagens obtidas por lâmpada de fenda e por retroiluminação, onde as imagens obtidas

por lâmpada de fenda servem para classificar a catarata nuclear, enquanto que as imagens obtidas por retroiluminação, servem para classificar a catarata cortical e subcapsular posterior.

No sistema LOCS III existem 6 imagens obtidas por lâmpada de fenda que ajudam a classificar a catarata nuclear de acordo com a cor e a opalescência do núcleo do cristalino. Para além das imagens obtidas por lâmpada de fenda, existem 5 imagens com diferentes estádios de catarata cortical e outras 5 imagens com diferentes estádios de catarata subcapsular posterior. As 6 imagens obtidas por lâmpada de fenda permitem a classificação da catarata entre 0.1 e 6.9. De modo análogo, as cataratas cortical e subcapsular posterior são classificadas entre 0.1 e 5.9. A escala decimal é utilizada quando o observador considera que o estado da catarata se situa entre os estádios apresentados nas imagens do LOCS III. Por exemplo, se a classificação for 2.5, significa que a severidade da catarata se situa entre os estádios representados nas imagens padrão 2 e 3.

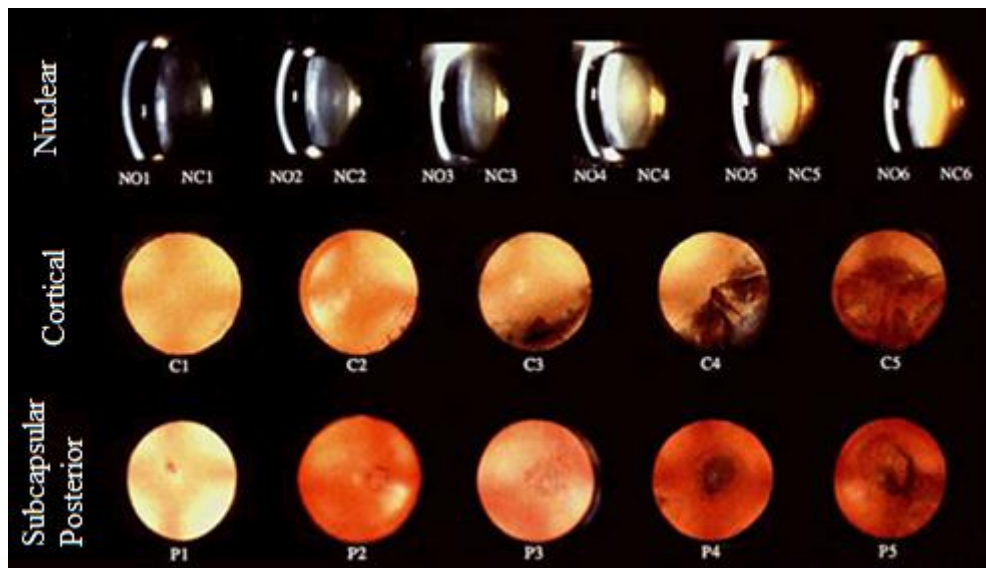


Figura 3.1 – Imagens padrão do sistema LOCS III. Adpatado de [38].

Existem vários estudos que exibem a variância inter-observador na avaliação do estado da catarata através da comparação de imagens [38, 39]. No entanto, está demonstrado que a utilização dos mesmos instrumentos (lâmpada de fenda ou biomicroscópio) com parâmetros constantes (iluminação e filtros) contribuem para o aumento da concordância inter-observador [37]. Todavia, esta concordância requer

treino e exige experiência por parte do observador, revelando-se, deste modo, um método pouco eficiente no contexto clínico [43].

No seguimento da variância inter-observador, têm surgido nos últimos anos, estudos que tentam automatizar a avaliação das imagens obtidas por lâmpada de fenda e retroiluminação. Em 2008 Shen, propôs um método para extrair as características do cristalino com base na sua cor. Para tal, utilizou um classificador *K-nearest*, que tinha por base a aproximação média de um conjunto de pixéis. Com este sistema, obteve uma taxa de reconhecimento de 92,5%. Todavia, o método era ineficiente em estádios avançados de catarata (3-65%; 4-53%; 5-40%) [44].

No mesmo ano, foi desenvolvido um sistema para detetar automaticamente a opacidade do cristalino com o objetivo de avaliar a catarata cortical. O método consistia na deteção e isolamento da região cortical do cristalino através de uma aproximação radial. A avaliação da catarata cortical era baseada nos parâmetros definidos no protocolo de classificação *Wiscosin*. A eficácia na classificação da catarata cortical atingiu os 86.3% [39]. No entanto, a imagem do método desenvolvido por Shen, revelou-se ineficiente para estádios avançados de catarata. Em 2009, foi publicado um estudo que reportava dois novos algoritmos para detetar a catarata cortical e nuclear, baseados nas imagens obtidas com lâmpada de fenda e por retroiluminação. Uma vez mais a taxa de sucesso limitava-se a estádios de catarata pouco severos [22].

No ano de 2010, Cheung desenvolveu um sistema automatizado para avaliar a opacidade do cristalino. As imagens foram processadas informaticamente e avaliadas por um especialista segundo o sistema de classificação *Wiscosin*. Os resultados também foram comparados com o sistema de classificação LOCS III, onde foi possível verificar que existia muita ambiguidade entre sistemas (*Wiscosin* e LOCS III), o que dificultou o processo de automatização através de imagens [43].

O processo de automatização através de imagens também é influenciado pela qualidade das imagens recolhidas. A existência de variáveis como a focagem, a iluminação, o contraste e os artefactos existentes, torna praticamente impossível obter um sistema automatizado que seja rápido e acima de tudo, totalmente eficaz.

Os ultrassons no diagnóstico médico são uma das tecnologias que mais tem crescido nos últimos anos, isto deve-se principalmente, ao facto de os ultrassons serem não invasivos e possibilitarem uma avaliação fácil e rápida. Existem na literatura, inúmeros artigos que referem os ultrassons para caracterização e observação de

diferentes regiões do corpo humano. No entanto, são poucos os estudos que exploram a fiabilidade da caracterização objetiva da catarata através de ultrassons.

A atenuação e a velocidade de propagação dos ultrassons são os parâmetros convencionalmente usados para caracterização de tecidos. No caso dos cristalinos, têm sido discutidos diferentes métodos para obter a velocidade de propagação e a atenuação das ondas acústicas neste tipo de tecido.

Num estudo realizado *in vitro*, fazendo uso de um refletor invasivo, foi verificado que a velocidade de propagação num cristalino sem catarata era de 1701 m/s no núcleo, de 1597 m/s no córtex anterior e de 1589 m/s no córtex posterior. Após a indução *in-vitro* de catarata ao longo de 180 minutos a velocidade de propagação aumentou para 1759 m/s no núcleo e 1806 m/s na região cortical [45]. Uma outra abordagem por parte do mesmo autor, consistiu em determinar a velocidade de propagação considerando o tempo de propagação com e sem o cristalino inserido entre o transdutor e um refletor. Neste caso, ao longo de 180 minutos de imersão, os autores obtiveram valores variando entre 1639 para 1735 m/s [46].

No caso da atenuação, também é possível observar uma certa discrepância nos estudos realizados. Através da análise espectral do sinal proveniente de um refletor, é possível encontrar na literatura, para um cristalino sem catarata, os seguintes valores, 4.49 e 6.32 dB/mm e para um cristalino com catarata total, 7.36 e 11.1 dB/mm. As frequências de inspeção dos transdutores utilizados correspondiam a 30 e 40MHz, respetivamente [46]. O uso de um refletor invasivo conduziu outro estudo a resultados de atenuação em cristalinos sem catarata induzida, de 9.42 e 0.42 dB/mm para o núcleo e região cortical, respetivamente. Após a indução de catarata ao longo de 180 minutos, os valores aumentaram para 18.8 e 19 dB/mm no núcleo e na região cortical, respetivamente [45]. Neste caso, a frequência utilizada foi de 46MHz.

A atenuação também pode ser obtida através da análise do sinal de *backscattering*. Esta, é uma prática muito explorada noutros tecidos [47, 48]. No caso dos cristalinos, existe um estudo que obteve uma evolução da atenuação de 2.26 para 24.44 dB/mm utilizando um transdutor de 47MHz [49].

A potencialidade do uso do sinal de *backscattering* não se esgota na determinação da atenuação. Uma outra aplicação possível é a caracterização do sinal de *backscattering* através de distribuições estatísticas. As distribuições de Rayleigh, Rice e Nakagami são alguns dos exemplos já abordados na caracterização de tecidos [50, 51].

No caso do cristalino, apesar de ainda não ser explícita a relação entre *scattering* e a formação da catarata, existe o interesse em caracterizar o sinal *backscattering* proveniente do cristalino através de uma distribuição estatística. Num estudo realizado através de um transdutor de 35MHz, conseguiram obter um aumento do parâmetro de forma (parâmetro m) da distribuição de Nakagami com a progressão da catarata, ou seja, observaram um aumento do valor médio da distribuição estatística ao longo do tempo de imersão do cristalino na solução indutora de catarata [52].

Uma outra aplicabilidade dos ultrassons consiste na análise de tecidos através do modo B (*B-scan*), no entanto, os estudos efetuados revelaram que não é possível relacionar a progressão da catarata através do modo B convencional [52, 53].

É possível verificar através dos resultados experimentais descritos na literatura que existe um aumento da atenuação e da velocidade de propagação com a progressão da catarata. No entanto, não se verifica uma clara e coerente tendência na evolução dos resultados. Deste modo, é necessário clarificar as diferenças entre métodos, assim como perceber qual o método que possibilita a caracterização objetiva da catarata de um modo mais eficaz e não invasivo. Só assim, será possível equacionar a utilização dos ultrassons na quantificação da energia ótima a usar na cirurgia de facoemulsificação.

4 Caracterização da catarata

Neste capítulo é apresentado o trabalho experimental desenvolvido no âmbito da caracterização da catarata por ultrassons, o qual está organizado em oito secções. Assim, aborda-se o processo de indução de catarata no cristalino; apresenta-se a configuração experimental utilizada; expõe-se a teoria subjacente à estatística na análise e comparação dos diferentes resultados obtidos; descrevem-se as abordagens usadas para o cálculo da velocidade de propagação e atenuação nos cristalinos; finalmente são apresentados resultados recorrendo a caracterizações alternativas, tais como, distribuição de Nakagami, análise através do *B-scan* e uso de sonogramas.

4.1 Indução de catarata *in-vitro*

A caracterização objetiva da catarata através de ultrassons, implica a análise de diferentes estádios de catarata, de modo a perceber a evolução dos parâmetros ao longo do tempo. De Korte (1994) verificou que os cristalinos de suínos possuem um coeficiente de atenuação muito similar ao dos humanos, sendo deste modo um bom modelo animal para testar a eficácia dos dispositivos e tecnologias desenvolvidas [54,

55]. Tendo em conta os estudos realizados, procedeu-se à recolha de olhos de suínos num talho nas imediações das instalações do laboratório.

Os cristalinos foram enucleados com um bisturi cirúrgico através de um corte realizado na zona do limbo esclero-corneano possibilitando uma extração sem traumatismos para o cristalino (ver Figura 4.1, 1). Os cristalinos foram posteriormente limpos com solução salina, com o objetivo de remover os restos da íris e do humor vítreo aderentes à cápsula (ver Figura 4.1, 2). O resultado final foi um cristalino isolado de humor vítreo e de íris (Figura 4.1, 3). Procedeu-se, posteriormente, à medição da sua espessura através de uma craveira, efetuando três medições independentes e extraíndo o valor médio, de modo a minimizar o erro da medida. A espessura média dos cristalinos analisados foi de 8.2 ± 0.2 mm. A conservação dos cristalinos até ao processo de análise por ultrassons foi assegurada através da imersão em solução DMEM⁹ [56].



Figura 4.1 – Processo de remoção do cristalino.

Inicialmente, induziu-se a catarata através da imersão do cristalino numa solução de água oxigenada (3%). Após a realização de vários ensaios, verificou-se que a água oxigenada não era uma boa solução para o teste por ultrassons, dada a existência de inúmeras microbolhas que atenuavam significativamente os sinais. A catarata foi então induzida por imersão numa solução constituída por etanol, 2-propanol e formalina numa razão de 3:3:4 [57]. Os cristalinos permaneceram imersos na solução durante 180 minutos, possibilitando a sua análise ao longo de diferentes estádios da catarata.

⁹ Meio de cultura utilizado para conservar tecido biológico.

A Figura 4.2 ilustra o aspeto do cristalino com catarata inicial (esquerda) e com catarata total (direita).



Figura 4.2 – Cristalino com catarata inicial (esquerda) e com catarata total (direita).

O estudo realizado envolveu vinte cristalinos num universo de cinquenta olhos. A grande fragilidade que o cristalino apresenta no seu manuseamento, justificou a perda de amostras válidas para análise. Por outro lado, verificou-se que alguns cristalinos apresentavam catarata tendo sido, por esse motivo, rejeitados. A maior parte destes casos correspondia a catarata traumática, ou seja, que se desenvolveu em virtude de lesões durante a sua extração. Este tipo de catarata, a semelhança da catarata sutural, é caracterizada pela presença de um Y no centro do cristalino (Figura 4.3). Para além da catarata traumática, também foram detetados cristalinos com catarata que se desenvolveu ao longo do período de vida do animal. Além dos casos referidos, foram usados outros cristalinos no processo de seleção do transdutor ótimo e da configuração experimental mais adequada para a análise.



Figura 4.3 – Catarata traumática.

4.2 Configuração experimental

A análise dos cristalinos foi efetuada através da técnica de pulso-eco. Uma das vantagens desta técnica consiste no facto de utilizar só um transdutor, que faz simultaneamente de emissor e recetor, permitindo a redução da complexidade associada à instrumentação. Na Figura 4.4 (a) é apresentado o equipamento utilizado na caraterização dos cristalinos.

O procedimento de análise consistiu em colocar os cristalinos numa placa de suporte, possuindo um furo circular, de modo a suportar o cristalino na região equatorial. Esta configuração foi verificada ser a mais interessante no que respeita à aquisição dos sinais, uma vez que proporcionava a eliminação de eventuais reflexões indesejadas na superfície do suporte. Num plano paralelo ao suporte do cristalino, foi colocado um refletor (placa de alumínio) a uma distância de 10mm, como é ilustrado Figura 4.4 (b).

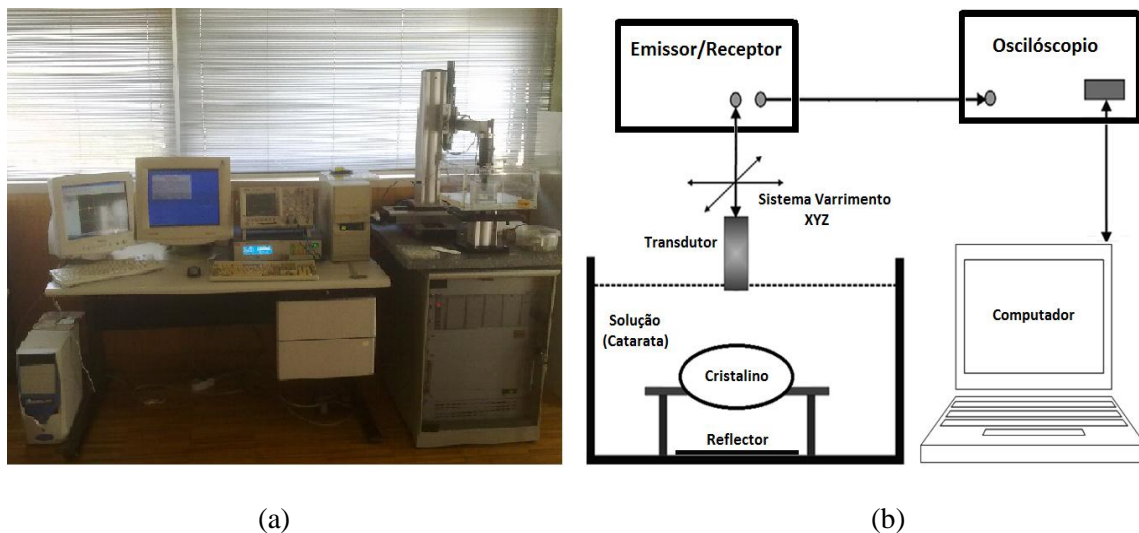


Figura 4.4 – (a) Equipamento utilizado na caracterização dos cristalinos; (b) esquemático da configuração experimental.

No estudo foi utilizado um transdutor (GE IAP-F25. 3.1) com uma frequência central de 25 MHz, posicionado a uma distância de 25mm (distância focal) da cápsula anterior do cristalino. As características deste transdutor estão descritas na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 – Características do transdutor utilizado.

Elemento ativo	Fluoreto de polivinilideno (PVDF)
Diâmetro do elemento ativo	5mm
Frequência central	25 MHz
Largura de banda	12.5 MHz a -3dB 37.5 MHz a -6dB
Comprimento do foco	20 – 35mm
Distância focal	25mm
Diâmetro do foco	0.3mm

O transdutor utilizado apresenta uma estrutura cilíndrica como ilustrado na Figura 4.5.



Figura 4.5 – Transdutor GE IAP-F25. 3.1. Dimensões em milímetros.

Na Figura 4.6 é possível observar o sinal típico de um eco e o respetivo espectro em frequência.

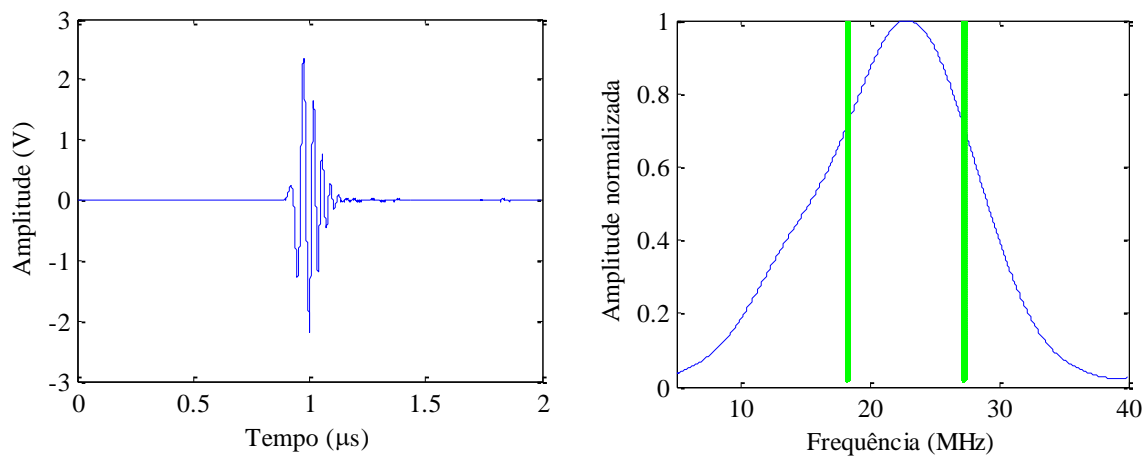


Figura 4.6 – Apresentação da forma de onda, nos domínios do tempo e frequência, de um sinal de eco. A verde está representada a largura de banda a -3dB do transdutor.

O transdutor foi colocado num sistema de varrimento XYZ (ver Figura 4.4b), suportado no eixo Z e acionado mecanicamente por guias com passo de elevada resolução (10 μm). A utilização destes 3 eixos permitiu um posicionamento rigoroso na zona de interesse, de modo a maximizar a amplitude do sinal recebido pelo transdutor. Os pulsos foram gerados com PRF de 400Hz através de um emissor/recetor (5800PR Panametrics, Olympus, Inc., Massachusetts, USA) com uma LB de 35 MHz. Os sinais de radiofrequência (RF) provenientes de reflexões no cristalino e no refletor plano, foram filtrados através de um filtro passa-banda (1-35 MHz) no emissor/recetor. O emissor/recetor proporcionou, também, a amplificação dos sinais, sendo de grande utilidade na caracterização em estudo, pelo facto de os sinais apresentarem reduzidos valores de amplitude. Os sinais foram posteriormente visualizados num osciloscópio (Tektronix TDS 3032, Beaverton, USA) e transferidos através da porta RS-232 e do programa Wavestar 2.8.1 da Tektronix Software, para um computador para posterior análise em ambiente Matlab. O cristalino e o transdutor, foram imersos na solução para indução a catarata a uma temperatura controlada de 20 ± 1 °C, tendo sido realizadas aquisições de dados de 20 em 20 minutos até 180 minutos, correspondendo ao estágio em que o cristalino se encontrava totalmente opaco.

4.3 Análise estatística

Os parâmetros ultrassónicos, como a velocidade e a atenuação, podem ser calculados através de diferentes abordagens como será descrito nos próximos capítulos. Assim, e de forma a perceber a significância das diferenças entre as várias abordagens foi realizada a análise estatística dos resultados obtidos (SPSS, v17.0, SPSS Inc, Chicago, IL, USA). O nível de significância (*p-value*) foi fixado em 0.05 com um intervalo de confiança de 95% [58].

Antes de proceder a escolha dos testes estatísticos adequados verificou-se, através do teste *Kolmogorov-Smirnov*, que as amostras não seguiam uma distribuição normal. Nesse âmbito, foram adotados dois testes não-paramétricos, o teste de *Wilcoxon* e o teste *Kruskal-Wallis*. O teste de *Wilcoxon* é um teste não-paramétrico que compara apenas duas amostras e pode ser expresso do seguinte modo [59],

$$W = \left| \sum_{i=1}^n [\text{sgn}(x_{2,i} - x_{1,i})R_i] \right| \quad (4.1)$$

onde $x_{1,i}$ e $x_{2,i}$ correspondem às observações na primeira e segunda amostra, respetivamente, *sgn* diz respeito ao teste do sinal, R_i é a ordenação de cada par analisado e n representa o número de pares. O teste de *Wilcoxon* permite compreender as diferenças estatísticas entre duas amostras, como por exemplo, entre parâmetros acústicos de tempos de imersão consecutivos.

O *Kruskal-Wallis* é um teste não-paramétrico que analisa três ou mais amostras independentes [60] e é dado pela equação,

$$K = \frac{12}{N(N+1)} \sum_{i=1}^k n_i \left(\frac{\sum_{j=1}^{n_i} r_{ij}}{n_i} \right)^2 - 3(N+1) \quad (4.2)$$

onde N é o número total de observações nas amostras, k é o número de amostras, n_i é o número de observações na amostra i e r_{ij} diz respeito a observação j na amostra i . Este teste permite compreender as diferenças estatísticas de três ou mais amostras, no caso

específico deste trabalho, todos os tempos de imersão de 0 a 180 minutos para um parâmetro acústico.

Os testes anteriores analisam a diferença estatística entre duas ou mais amostras, no entanto, não permitem a análise da consistência entre diferentes abordagens. Para esse efeito, foi utilizado o teste *Intraclass Correlation Coefficient* (ICC) [61], expresso da seguinte forma,

$$r = \frac{S}{S-1} \frac{k^{-1} \sum_{i=1}^k \left(\bar{x}_i - \frac{1}{S} \sum_{i=1}^k x_{i,S} \right)^2}{\frac{1}{S} \sum_{i=1}^k \left(x_{i,S} - \frac{1}{S} \sum_{i=1}^k x_{i,S} \right)^2} - \frac{1}{S-1} \quad (4.3)$$

onde S é o número de observações por amostra, \bar{x}_i é a média de cada amostra i e k é o número total de amostras. Através da análise da consistência é possível saber se existe uma evolução similar entre os parâmetros acústicos medidos.

4.4 Velocidade de Propagação

A velocidade ultrassonora é um dos parâmetros mais eficazes para caracterizar os tecidos, atendendo à dependência desta com a densidade do meio de propagação. Quanto mais denso for o material maior será a velocidade de propagação. Na Tabela 4.2, estão representadas alguns meios materiais e respetivas velocidades de propagação.

Tabela 4.2 – Densidade e velocidade de propagação dos ultrassons em alguns materiais, tecidos e órgãos [62].

Material	Densidade p [kg/m ³]	Velocidade v [m/s]
Alumínio	2700	6400
Água	1000	1480
Sangue	1060	1570
Osso	1380-1810	4080
Tecido adiposo	920	1450
Rim	1040	1560
Fígado	1060	1570

Apesar da velocidade de propagação dos ultrassons nos tecidos biológicos ser um parâmetro muito usado na caraterização de tecidos e órgãos, existem poucos estudos sobre a aplicabilidade deste parâmetro na caracterização objetiva da catarata. Por essa razão, é importante avaliar as potencialidades deste parâmetro de modo a concluir acerca da sua utilidade na caracterização da catarata. Nesta perspetiva foram realizadas três abordagens diferentes: análise no domínio do tempo, análise em frequência e análise fazendo uso de um refletor plano.

4.4.1 Análise no tempo

O cálculo da velocidade de propagação no domínio do tempo foi realizado fazendo uso da seguinte expressão,

$$v = \frac{2L}{\Delta t} \quad (4.4)$$

em que L corresponde à espessura da cristalino, medida com recurso a uma craveira e Δt corresponde ao tempo de propagação no cristalino, i.e., à diferença temporal entre o eco da cápsula posterior e o eco da cápsula anterior.

A aquisição dos ecos foi realizada com uma base temporal de $2 \mu\text{s}$ o que assegurava que o eco da cápsula anterior era amostrado na primeira metade do sinal, de 0 à $10 \mu\text{s}$, e o eco da cápsula posterior era amostrado na segunda metade do sinal, de 10 à $20 \mu\text{s}$, como indicado na Figura 4.7. A posição temporal de cada um dos ecos foi conseguida através da identificação da sua amplitude máxima.

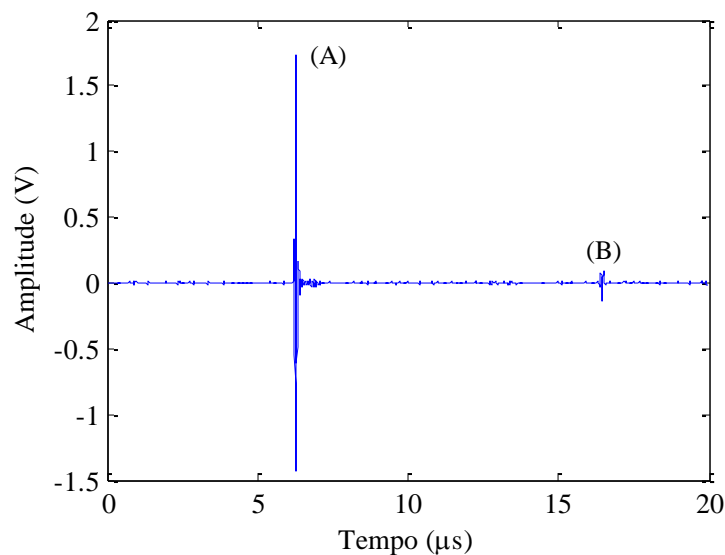


Figura 4.7 – Representação do sinal obtido de um cristalino, onde é visível o eco cápsula anterior (A) e o eco da cápsula posterior (B).

Através desta análise verificou-se que a velocidade de propagação aumenta de 1617 ± 36 m/s (média \pm desvio padrão) num cristalino sem catarata para 1694 ± 30 m/s num cristalino com catarata total, apresentado na Figura 4.8.

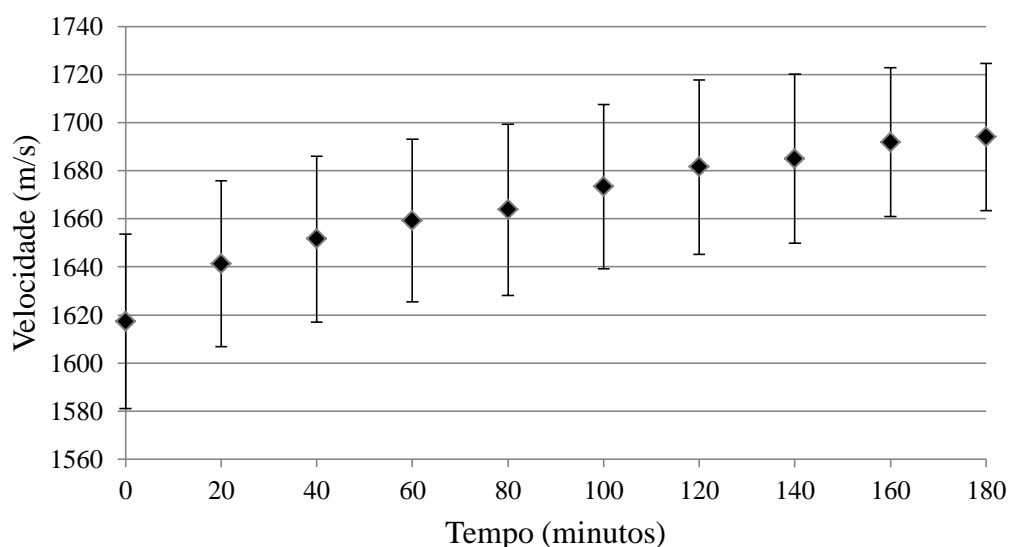


Figura 4.8 – Velocidade de propagação ao longo do tempo de imersão. Valores obtidos através da análise no domínio do tempo.

4.4.2 Análise em frequência

A segunda abordagem, com vista ao cálculo da velocidade de propagação, baseou-se no desvio relativo da frequência central (Δf) dos ecos provenientes das fronteiras do cristalino, usando para o efeito a expressão,

$$v = 2L\Delta f \quad (4.5)$$

De forma a manter a coerência entre as abordagens optou-se por considerar o mesmo sinal de referência da abordagem anterior, apresentado na Figura 4.7, tendo sido a componente DC removida através da subtração da média do sinal. Uma vez que o eco da face anterior e o eco da face posterior estavam amostrados no mesmo sinal ultrassónico procedeu-se a sua separação para efeitos de análise em frequência.

A análise de cada um dos ecos foi conseguida através da aplicação de uma janela temporal, cuja largura correspondeu ao dobro da largura do eco de pulso, permitindo isolar o respetivo eco da restante parte do sinal. Depois de obter o eco isolado o sinal era novamente reconstruído através da técnica de *zero-padding*, ou seja, era completado com zeros. Assim, realizou-se a passagem do domínio temporal para o domínio em frequência através da transformada de Fourier rápida (FFT) com 1024 pontos. No apêndice B, Figura B.1, é apresentado o diagrama de blocos do método descrito.

À semelhança da análise no domínio do tempo, com este método verificou-se também um aumento da velocidade de propagação com a evolução da catarata. Neste caso, a velocidade de propagação aumentou de 1619 ± 38 m/s para 1692 ± 38 m/s nos 180 minutos de imersão considerados, tal como ilustrado na Figura 4.9.

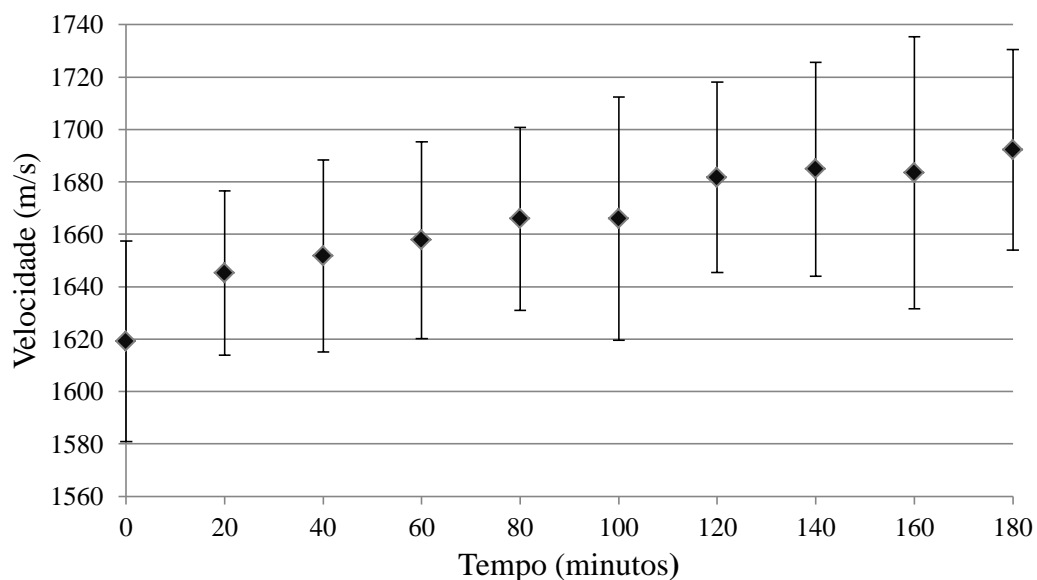


Figura 4.9 – Velocidade de propagação ao longo do tempo de imersão. Valores obtidos através da análise em frequência.

4.4.3 Uso de um refletor plano

O uso de um refletor plano constitui uma abordagem alternativa interessante uma vez que permite calcular a velocidade de propagação sem o conhecimento prévio da espessura do cristalino. Na Figura 4.10 estão ilustrados os tempos de propagação de interesse para o método.

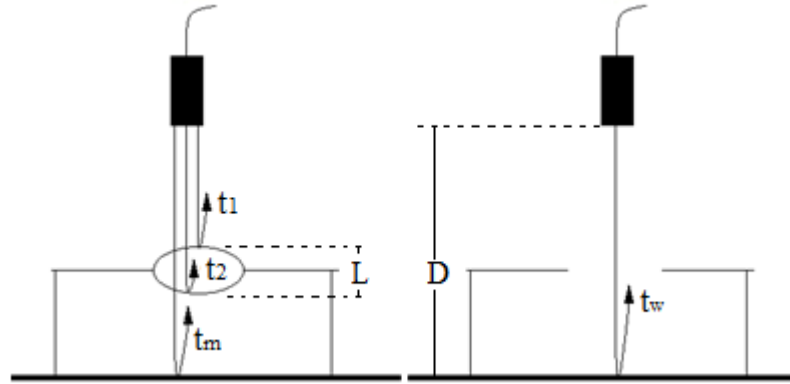


Figura 4.10 – Representação dos tempos de voo na análise temporal através do refletor.

Do esquema representado na Figura 4.10 é possível obter as seguintes equações,

$$v = \frac{2L}{\Delta t} \quad (=) \quad L = \frac{v(t_2 - t_1)}{2} \quad (4.6)$$

$$2D = ct_w \quad (=) \quad D = \frac{ct_w}{2} \quad (4.7)$$

$$t_m = \frac{2(D - L)}{c} + \frac{2L}{v} \quad (4.8)$$

onde os valores de t_m e t_w representam o tempo de voo num esquema com e sem o cristalino, t_1 e t_2 representam o tempo de voo até a capsula anterior e posterior do cristalino, respetivamente, D simboliza a distância entre o transdutor e o refletor e por fim, c representa a velocidade de propagação no meio de imersão.

Deste modo é possível realizar a seguinte dedução,

$$t_m = \frac{2 \left(\frac{ct_w}{2} - \frac{v(t_2 - t_1)}{2} \right)}{c} + \frac{2 \frac{v(t_2 - t_1)}{2}}{v} \quad (4.9)$$

$$t_m = \frac{(ct_w - v(t_2 - t_1))}{c} + \frac{v(t_2 - t_1)}{v} \quad (4.10)$$

$$c(t_m - (t_2 - t_1)) = ct_w - v(t_2 - t_1) \quad (4.11)$$

$$v = \frac{c(t_m - t_w - (t_2 - t_1))}{-(t_2 - t_1)} \quad (4.12)$$

E assim é possível obter a equação da velocidade de propagação sem o conhecimento da espessura do cristalino [46],

$$v = c \left(\frac{t_m - t_w}{t_1 - t_2} + 1 \right) \quad (4.13)$$

Com a introdução do cristalino entre o transdutor e o refletor foi possível medir os diferentes tempos de propagação, tal como ilustrado na Figura 4.11, esquerda. Assim, o t_1 foi obtido da diferença entre sinal de emissão (1) e o eco da cápsula anterior (2), o t_2 foi calculado através da diferença entre o sinal de emissão (1) e o eco da cápsula posterior (3) e, o t_m foi obtido da diferença temporal entre o sinal de emissão (1) e o eco do refletor (6). Por sua vez, o valor de t_w resultou da diferença temporal entre o sinal de emissão (5) e o refletor (6), sem o cristalino no esquema, visível na Figura 4.11, direita. O sinal de emissão foi posicionado em $5\mu s$, em todas as aquisições.

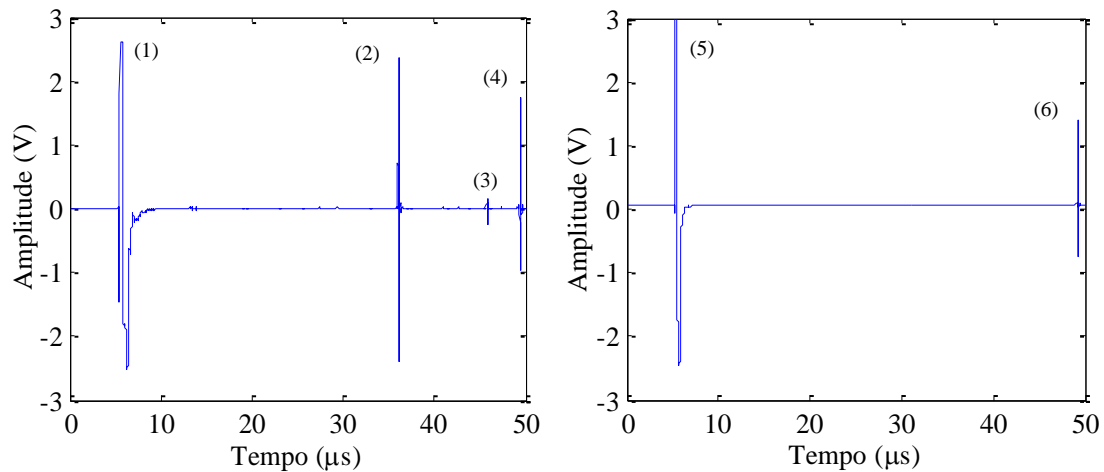


Figura 4.11 – Representação dos tempos de voo na análise temporal através do refletor.

À semelhança das abordagens anteriores, o uso de um refletor plano proporcionou resultados para a velocidade de propagação com evolução similar, para os 180 minutos de evolução da catarata. Assim, para um cristalino sem catarata, a velocidade média foi de 1597 ± 37 m/s e para o tempo de imersão máximo, verificou-se o valor de 1670 ± 32 m/s. A evolução da velocidade para a gama de tempo considerada está representada na Figura 4.12.

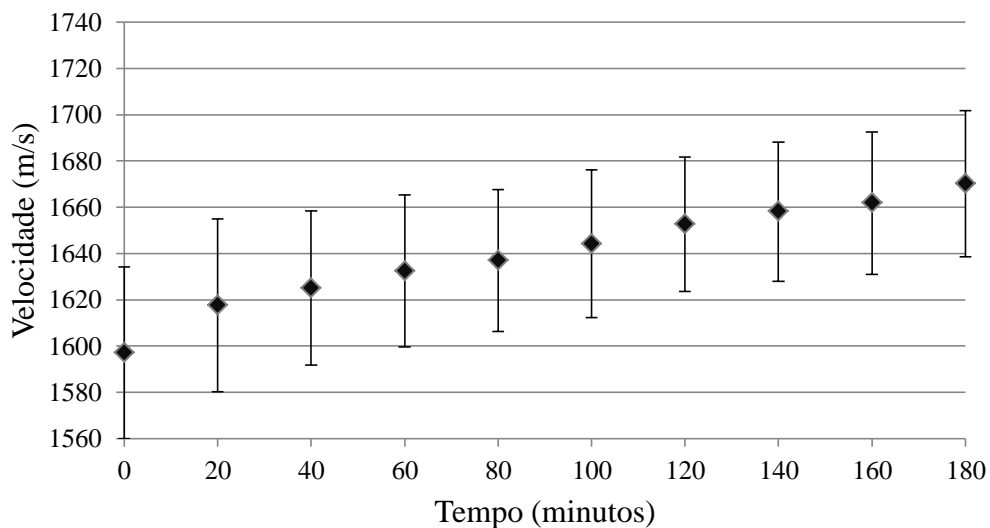


Figura 4.12 – Velocidade de propagação ao longo do tempo de imersão. Valores obtidos através da análise fazendo uso de um refletor plano.

4.4.4 Discussão e conclusões

A velocidade de propagação acústica no cristalino foi obtida através de três abordagens distintas ao longo de 180 minutos, que correspondem à indução de catarata total. A primeira abordagem, cálculo da velocidade de propagação no domínio do tempo, focou a análise da diferença temporal entre o eco da cápsula anterior e o eco da cápsula posterior, sendo possível observar um aumento de velocidade de 4.8%, ou seja de 1617 para 1694 m/s. A segunda abordagem baseou-se na interferência em frequência dos mesmos ecos verificando-se um aumento na velocidade de propagação de 4.5%, ou seja de 1619 para 1692 m/s. Por fim, na terceira abordagem, através do uso de um refletor, foi possível verificar um aumento da velocidade de propagação de 4.6%, de 1597 para 1670 m/s.

A análise estatística efetuada para as amostras de 0-180 minutos, através do teste de *Kruskal-Wallis*, apresentou um *p-value* menor que 0.001 ($p < 0.001$) que por sua vez é inferior a 0.05, o que representa uma diferença estatisticamente significativa entre as amostras. O resultado mostrou que para diferentes tempos de imersão a velocidade de propagação era estatisticamente diferente, apesar de não existir uma variação significativa de velocidade. Contudo, com este teste, não foi possível verificar a evolução da catarata dentro dos intervalos entre as amostras, uma vez que o teste *Kruskal-Wallis* analisa três ou mais amostras.

A velocidade de propagação entre tempos de imersão consecutivos, foi comparada com o teste de *Wilcoxon*. O grupo de 0 minutos (sem catarata) foi comparado com o grupo de 20 minutos; o grupo de 20 minutos foi comparado com o grupo de 40 minutos e assim sucessivamente até chegar aos 180 minutos. Os resultados do teste são apresentados na Tabela C.1 do apêndice C, e mostram que existe uma diferença estatística significativa entre os tempos de imersão consecutivos, ou seja, o *p-value* é inferior à 0.05.

A comparação entre as abordagens usadas para o cálculo da velocidade de propagação, através do *Intraclass Correlation Coefficient* permitiu verificar que a análise no tempo e a análise em frequência possuem elevada similaridade com valor de ICC=0.946 e com um $p < 0.001$. Na comparação entre a análise no tempo e a análise fazendo uso de um refletor verificou-se um valor de ICC=0.824 com $p < 0.001$. Por fim, na comparação entre a análise em frequência e a análise com o uso de um refletor observou-se um valor de ICC=0.745 com $p < 0.001$.

A similaridade entre os valores das velocidades encontradas com o método da análise temporal e com o método da análise em frequência, deve-se ao facto de estes dois métodos serem iguais em natureza, diferindo apenas no domínio em que os cálculos são feitos. Estas duas abordagens são suscetíveis ao erro de medição da espessura do cristalino, podendo existir uma variação inter-observador. Para além deste, existe o erro associado a posição do transdutor em relação ao cristalino. Apesar do cuidado em tentar posicionar o transdutor no centro da cápsula anterior do cristalino, poderá existir um erro associado entre os valores medidos e o referencial e, portanto, a espessura que o feixe ultrassónico atravessa poderá ser diferente da espessura medida pela craveira. Estes erros, eventualmente, poderão ser responsáveis pela discrepância existente entre as duas primeiras análises e a análise fazendo uso de um refletor.

A análise com recurso a um refletor apresenta, como vantagem, o facto de não estar sujeita ao erro de medição da espessura do cristalino, salvaguardando-se assim os erros referidos anteriormente. Todavia, e apesar de ser um método muito menos suscetível a erros, não é prático no contexto do diagnóstico clínico uma vez que necessita de um refletor, o que o torna um método invasivo.

4.5 Atenuação acústica

A atenuação acústica é o resultado da absorção e da dispersão que ocorrem à medida que as ondas se propagam nos meios materiais. O valor da atenuação pode ser expresso em decibéis por unidade de distância percorrida e é função da frequência de inspeção. Por esta razão, a profundidade de penetração dos ultrassons diminui à medida que a frequência de inspeção aumenta. Na Tabela 4.3 é apresentado, de modo genérico, a profundidade de penetração para algumas frequências na gama dos MHz [63].

Tabela 4.3 – Profundidade de penetração em função da frequência de inspeção.

Frequência (MHz)	Profundidade de Penetração (mm)
1	400
2	200
3	130
5	80
10	40
20	20

Através do rearranjo da equação (2.5), apresentada na secção 4 do capítulo 2, é possível chegar à seguinte equação para o coeficiente de atenuação, α ,

$$\alpha = \left(\frac{1}{x}\right) \ln \left(\frac{A_0}{A}\right) \quad (4.14)$$

onde x representa a distância percorrida, A_0 representa a amplitude da onda no instante inicial e A representa a amplitude de onda após esta percorrer a distância x . A atenuação além de variar com a frequência de inspeção, também, varia em função das propriedades do tecido em estudo.

Na Tabela 4.4 seguem alguns dos valores típicos da atenuação para alguns tecidos do corpo humano [64].

Tabela 4.4 – Atenuação média em diferentes tecidos.

Material	Atenuação [dB/(mm MHz)]
Tecido adiposo	0.063
Musculo cardíaco	0.18
Sangue	0.018
Osso	2.0
Pulmão	4.1
Rim	0.1

Os ultrassons, ao propagarem-se entre dois meios com impedâncias diferentes sofrem reflexão e refração. A estes dois fenómenos estão associados o coeficiente de reflexão, R , e o coeficiente de transmissão, T , tal como descrito na secção 4 do capítulo 2.

4.5.1 Análise usando os sinais das interfaces

Um dos métodos para cálculo da atenuação consiste na análise das reflexões no interior do cristalino, esquematizadas na Figura 4.13.

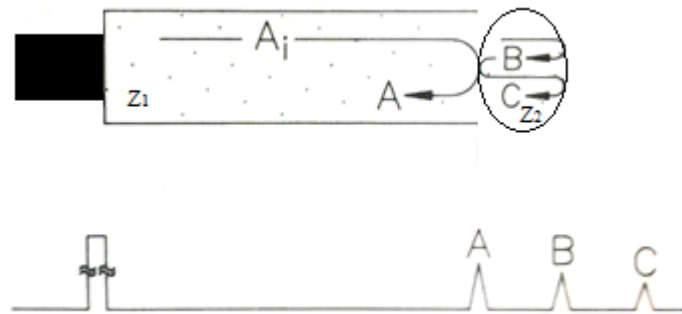


Figura 4.13 – Representação do diagrama de ecos no interior de um cristalino.

A figura anterior apresenta a propagação dos ultrassons no meio de imersão e no cristalino através do modo A, sendo Z_1 a impedância do meio de transmissão, Z_2 a impedância do cristalino e A, B e C a representação dos ecos obtidos de uma onda incidente com amplitude A_i .

O valor da atenuação pode ser obtido a partir dos ecos B e C, que têm como base as equações (4.15) e (4.16),

$$B = T_{12}e^{-2L\alpha_c}R_{12}T_{21} \quad (4.15)$$

$$C = T_{12}e^{-2L\alpha_c}R_{12}R_{21}e^{-2L\alpha_c}R_{12}T_{21} \quad (4.16)$$

onde T_{12} representa o coeficiente de transmissão da solução de imersão para o cristalino, T_{21} corresponde ao coeficiente de transmissão do cristalino para o meio de propagação, R_{12} simboliza o coeficiente de reflexão na cápsula posterior, R_{21} representa o coeficiente de reflexão na cápsula anterior após a onda ter sido refletida na cápsula posterior e o valor de L simboliza a espessura do cristalino.

Tendo por base as equações (4.15) e (4.16) pode deduzir-se a relação entre os ecos B e C, que nos dá a expressão da atenuação, ou seja,

$$\frac{B}{C} = \frac{T_{12}e^{-2L\alpha_c}R_{12}T_{21}}{T_{12}e^{-2L\alpha_c}R_{12}R_{21}e^{-2L\alpha_c}R_{12}T_{21}} \quad (4.17)$$

$$\frac{B}{C} = \frac{e^{-2L\alpha_c}}{e^{-4L\alpha_c}R_{21}R_{12}} \quad (4.18)$$

$$\frac{B}{C}R_{21}R_{12} = e^{2L\alpha_c} \quad (4.19)$$

Resolvendo em ordem a α_c , resulta a expressão para o cálculo da atenuação no cristalino em função da amplitude dos ecos B e C, da espessura do cristalino e dos coeficientes de reflexão,

$$\alpha_c = \frac{1}{2L} \ln \left(R_{21}R_{12} \frac{B}{C} \right) \quad (4.20)$$

A Figura 4.14 representa os ecos obtidos de um cristalino, usando o transdutor de 25MHz. Verificou-se ser apenas possível detetar o eco A (cápsula anterior) e o eco B (cápsula posterior). Assim, a ausência do eco C correspondente ao segundo eco da face posterior, impede a utilização da expressão (4.20) para o cálculo da atenuação no cristalino.

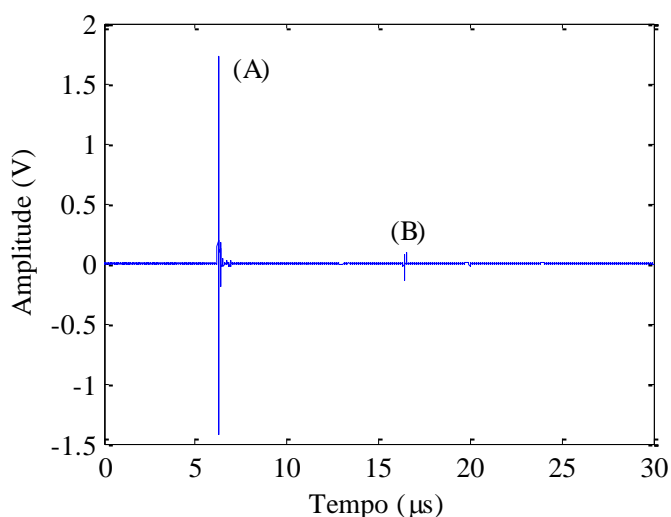


Figura 4.14 – Representação do eco da cápsula anterior (A) e da cápsula posterior (B).

A ausência do eco C requereu a reformulação do processo de cálculo da atenuação, tendo apenas em consideração os ecos das faces anterior e posterior do cristalino. Para o efeito, foi usada a representação esquemática ilustrada na Figura 4.15, a partir da qual foi possível deduzir as seguintes expressões para os sinais de eco em causa,

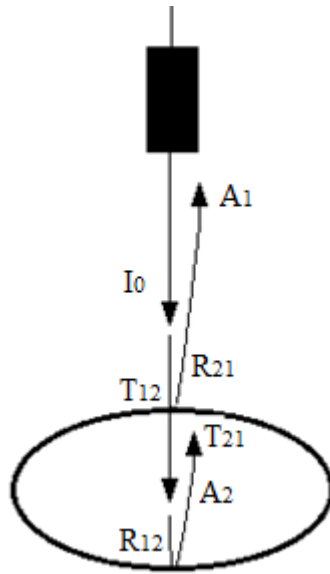


Figura 4.15 – Representação esquemática do sinal de transmissão (I_0), dos ecos da cápsula anterior (A_1) e posterior (A_2) e dos coeficientes de transmissão (T) e reflexão (R).

Para deduzir a equação matemática para o cálculo da atenuação, deste método, consideram-se as equações (4.21) e (4.22),

$$A_1 = I_0 R_{21} e^{-2\alpha_a d} \quad (4.21)$$

$$A_2 = I_0 (T_{12} R_{12} T_{21} e^{-2\alpha_c L} e^{-2\alpha_a d}) \quad (4.22)$$

onde A_1 e A_2 representam as amplitudes dos ecos da cápsula anterior e posterior do cristalino, respetivamente. Por sua vez, T_{12} e T_{21} identificam os coeficientes de transmissão do meio de imersão para o cristalino e do cristalino para o meio de imersão, assim como, R_{21} representa o coeficiente de reflexão na cápsula anterior e o valor de R_{12} representa o coeficiente de reflexão na cápsula posterior. A atenuação no cristalino é dada por α_c e α_a caracteriza a atenuação na solução. O parâmetro d identifica a distância do transdutor ao cristalino.

Relacionando (4.21) e (4.22) obtém-se,

$$\frac{A_1}{A_2} = \frac{I_0 R_{21} e^{-2\alpha_a d}}{I_0 (T_{12} R_{12} T_{21} e^{-2\alpha_c L} e^{-2\alpha_a d})} \quad (4.23)$$

cuja simplificação conduz a,

$$\frac{A_1}{A_2} = \frac{R_{21}}{T_{12} R_{12} T_{21} e^{-2\alpha_c L}} \quad (4.24)$$

O rearranjo da equação (4.24), de modo a evidenciar o parâmetro α_c ,

$$\frac{A_1 T_{12} R_{12} T_{21}}{A_2 R_{21}} = e^{2\alpha_c L} \quad (4.25)$$

conduz à seguinte expressão para a atenuação no cristalino,

$$\alpha_c = \frac{20}{2L} \log_{10} \left(\frac{A_1 T_{12} R_{12} T_{21}}{A_2 R_{21}} \right) \quad (4.26)$$

Os coeficientes de transmissão e reflexão podem ser escritos em função das impedâncias do meio de imersão e da impedância do cristalino. Assim,

$$\frac{T_{12} R_{12} T_{21}}{R_{21}} = \frac{\frac{2Z_2}{Z_1 + Z_2} \frac{Z_1 - Z_2}{Z_2 + Z_1} \frac{2Z_1}{Z_2 + Z_1}}{\frac{Z_2 - Z_1}{Z_2 + Z_1}} = \frac{-4Z_1 Z_2}{(Z_1 + Z_2)^2} = -T_{12} T_{21} \quad (4.27)$$

Haim Azhari (2010) definiu a impedância acústica da água e do cristalino sem catarata como sendo, 1.48 (para 20°C) e 1.72 $\text{kgm}^{-2}\text{s}^{-1}$ ($\times 10^6$), respetivamente [65]. Com a progressão da catarata a densidade do cristalino aumenta sendo expectável um aumento máximo da sua impedância até 2 $\text{kgm}^{-2}\text{s}^{-1}$ ($\times 10^6$), visto que, não existe nenhum tecido no corpo humano, à exceção do osso, que possua uma impedância acústica superior a este valor. Assim, com vista a avaliar a influência da variação da impedância nos

coeficientes de transmissão e reflexão representados em (4.27), foi analisado o impacto da variação da impedância no valor do produto dos coeficientes de transmissão ($T_{12}T_{21}$). O resultado está ilustrado na Figura 4.16.

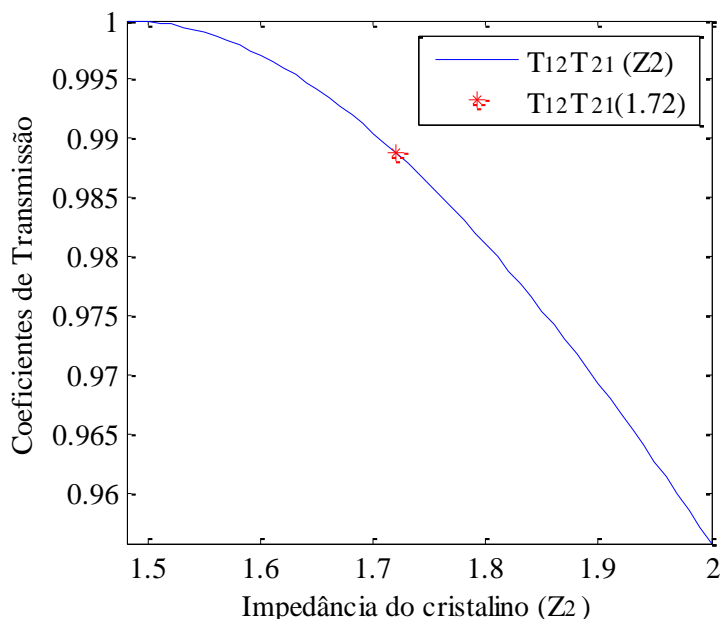


Figura 4.16 – Valor do produto dos coeficientes de transmissão em função da impedância do cristalino.

Conclui-se que o aumento da impedância do cristalino até o valor máximo representado, não conduz a uma grande variação no valor dos coeficientes de transmissão. Assim, uma alteração da impedância acústica do cristalino de 1.72 para $2 \text{ kgm}^{-2}\text{s}^{-1} (\times 10^6)$, conduziu a uma variação do coeficiente de transmissão de 0.9944 para 0.9777, ou seja, 1.67%. Tratando-se de uma variação pouco relevante, considerou-se para o cálculo experimental, o valor da impedância do cristalino referido na bibliografia, i.e., $1.72 \text{ kgm}^{-2}\text{s}^{-1} (\times 10^6)$.

Considerando os ecos das fronteiras do cristalino e os respetivos coeficientes de reflexão e transmissão, procedeu-se ao cálculo da atenuação em função da frequência, usando a equação (4.26). Nos testes laboratoriais testou-se a aquisição simultânea de ambos os ecos, tornando o processo de cálculo mais expedito, implicando contudo numa menor taxa de amostragem.

Na Figura 4.17, estão ilustrados os dois ecos de interesse, adquiridos a uma taxa de 500MS/s (*MSamples/sec*).

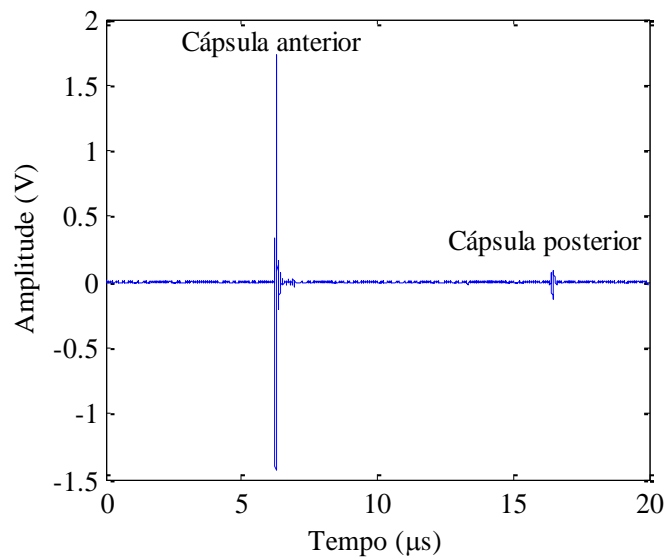


Figura 4.17 – Representação temporal dos ecos da cápsula anterior e posterior do cristalino sem catarata.

Em alternativa, os ecos poderiam ter sido adquiridos isoladamente, como mostrado na Figura 4.18. A vantagem subjacente a esta abordagem está apenas relacionada com uma mais elevada taxa de amostragem, que para os exemplos ilustrados foi de 5GS/s, valor limitado pelo *hardware* de aquisição de sinal utilizado.

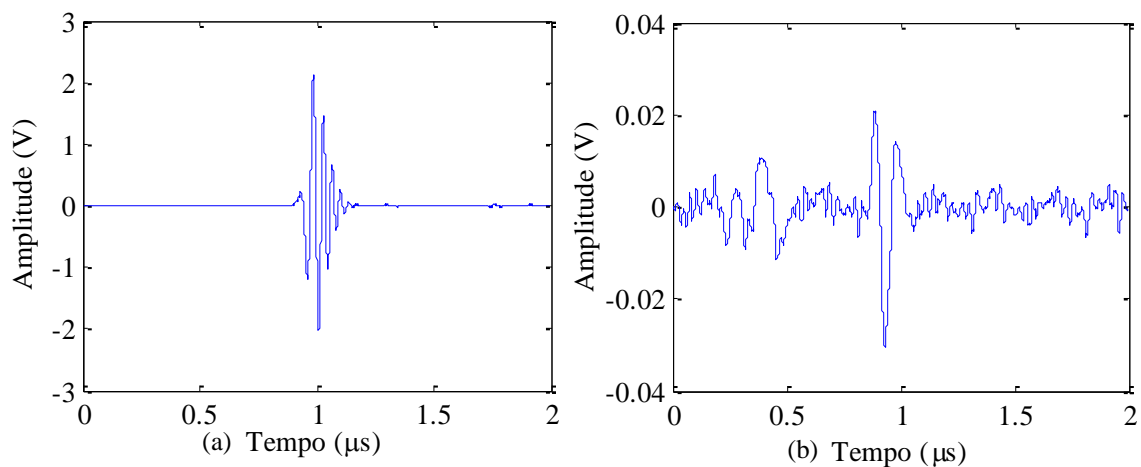


Figura 4.18 – Ecos da cápsula anterior (a) e posterior (b) para um cristalino sem catarata.

Na Figura 4.19 é ilustrado a representação em frequência dos referidos sinais de ecos adquiridos em simultâneo ou separadamente, respetivamente, usando a FFT com 1024 pontos.

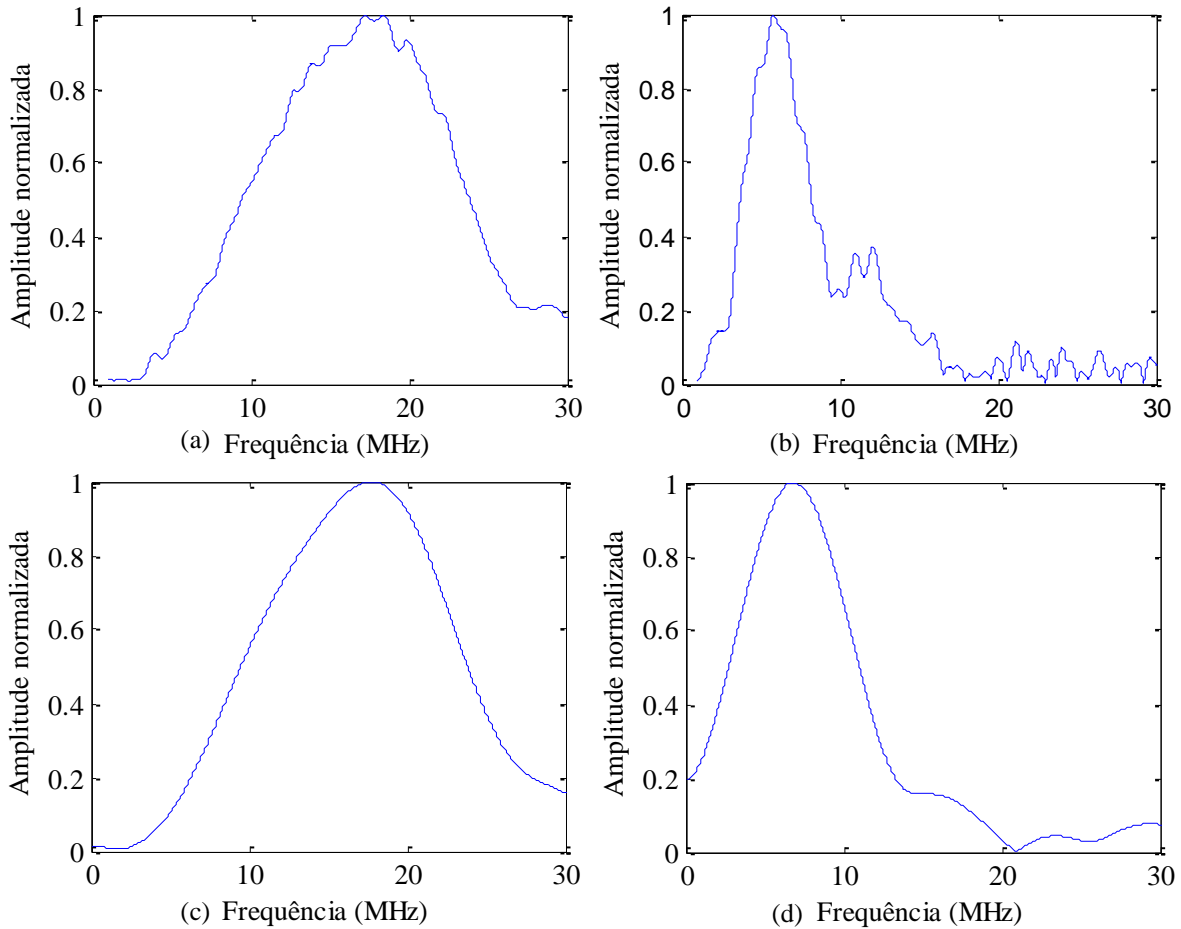


Figura 4.19 – Espectros em frequência dos ecos das cápsulas: (a)(b) aquisição conjunta dos sinais; (c)(d) aquisição dos mesmos sinais, separadamente.

É evidente que os espectros dos sinais adquiridos separadamente, apresentam transições mais suaves quando comparados com os espectros dos sinais adquiridos em simultâneo. Tendo em conta que o método de cálculo da atenuação se baseia na relação entre espectros, uma boa definição em frequência é crucial para se obterem resultados credíveis. Assim, optou-se por realizar o estudo considerando os sinais de eco adquiridos separadamente. Refira-se que, aquando do cálculo da velocidade baseado na abordagem em frequência, tal preocupação não foi necessária porque o método focava-se na extração da frequência central.

O processo de obtenção dos espectros dos sinais passou pela extração prévia da componente DC associada. A existência desta componente é ilustrada na Figura 4.20.

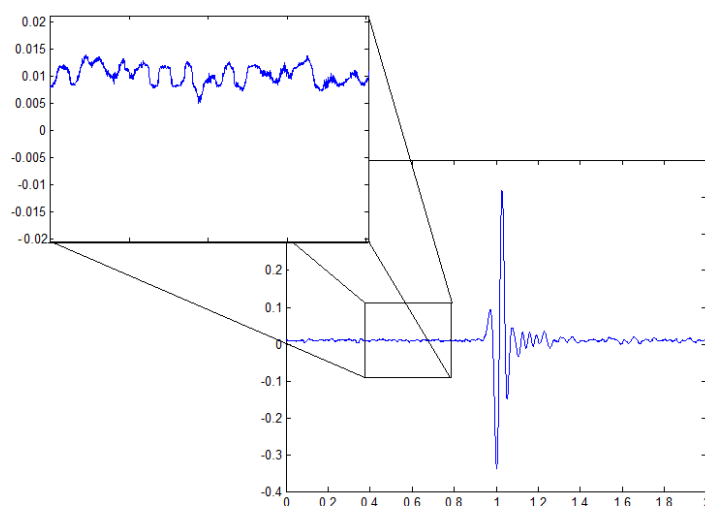


Figura 4.20 – Sinal de eco da cápsula anterior com componente DC.

A componente DC foi removida através da subtração da média do sinal, processo que, também pode ser entendido como um filtro passa-alto. Desta forma, foi possível eliminar a componente DC sem influenciar a frequência central dos sinais. Na Figura 4.21 é ilustrado o sinal do eco anterior com valor médio da componente DC em torno de zero.

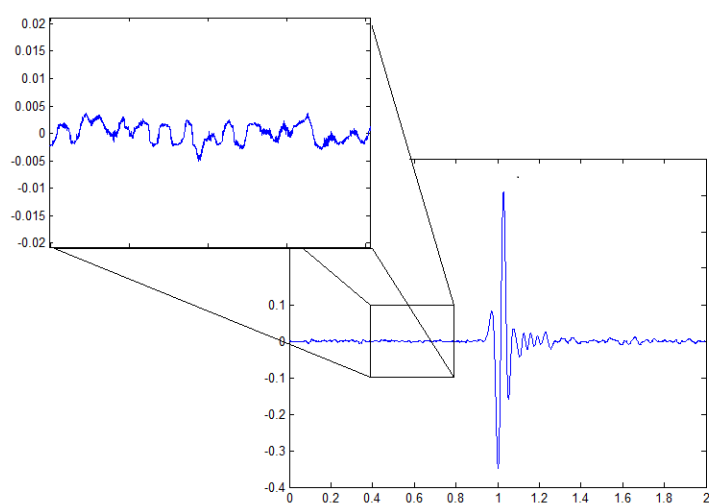


Figura 4.21 – Sinal de eco da cápsula anterior com valor médio da componente DC em torno de zero.

Na Figura 4.22, são apresentadas as amplitudes normalizadas dos espectros para diferentes tempos de imersão considerados no estudo dos cristalinos. Na imagem da esquerda, é observado um incremento da amplitude dos sinais da cápsula anterior ao longo do tempo de imersão. Na imagem da direita verifica-se uma redução da amplitude dos sinais da cápsula posterior, bem como da respectiva frequência central.

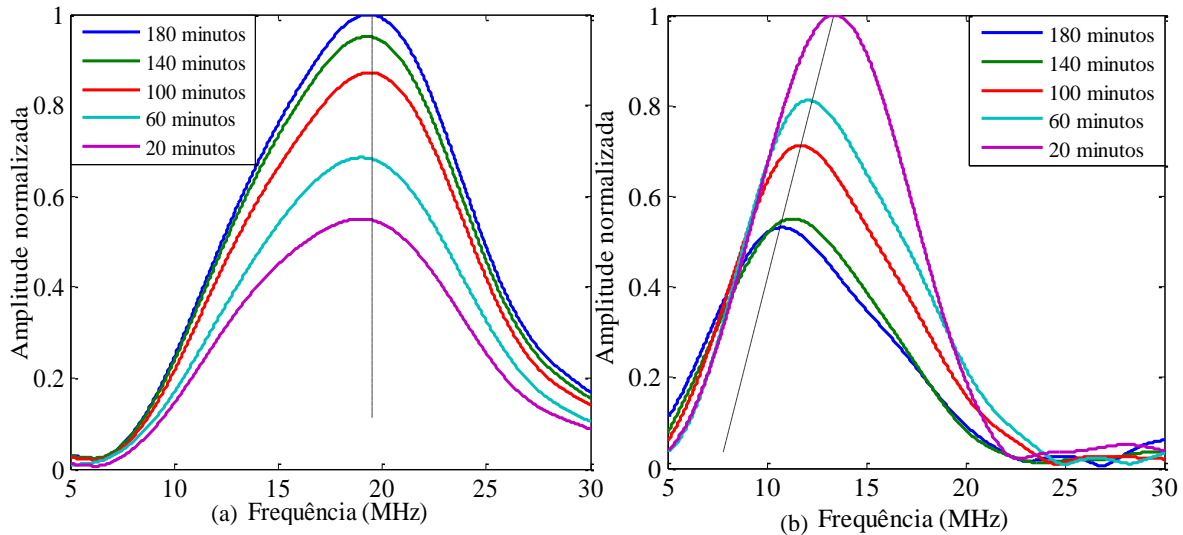


Figura 4.22 – Desvio em frequência do espectro da cápsula anterior (a) e da cápsula posterior (b) para diferentes tempos de imersão.

Através dos espectros em frequência dos sinais das cápsulas anterior e posterior foi obtido a diferença logarítmica para os diferentes tempos de imersão. A esta diferença acresce a divisão pelo dobro da espessura do cristalino e a multiplicação por 20, a fim de obter o valor em dB, como indica a equação (4.26) e representado na Figura 4.23.

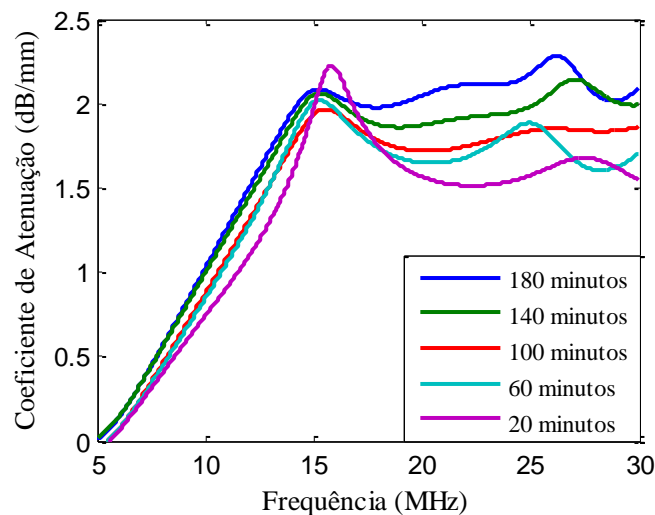


Figura 4.23 – Diferença logarítmica entre os espectros da cápsula anterior e posterior ao longo do tempo de imersão de um cristalino.

O passo seguinte consistiu na realização de uma regressão linear, no intervalo em frequência definido pela largura de banda à -3dB do eco da cápsula posterior. Deste modo garantia-se que a regressão era realizada na dentro do intervalo correspondente a largura de banda do transdutor. Na Figura 4.24 é apresentada a média das regressões lineares obtidas para os cristalinos estudados.

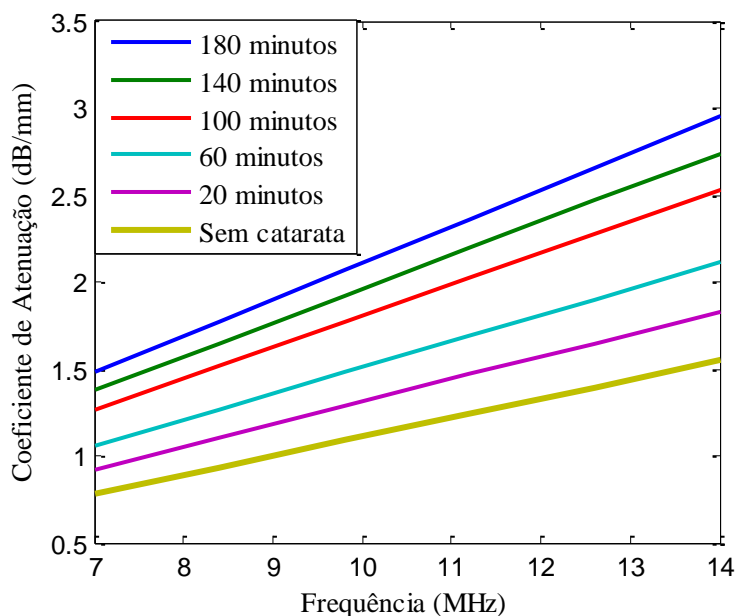


Figura 4.24 – Representação da média das regressões lineares obtidas da diferença logarítmica entre os espectros da cápsula anterior e posterior ao longo do tempo de imersão.

Com o declive das regressões lineares para os diferentes tempos de imersão foi obtido o valor da atenuação [dB/(mm MHz)]. No apêndice B, Figura B.2, é apresentado o fluxograma do procedimento referido anteriormente. Através deste procedimento verificou-se um aumento da atenuação de 0.12 ± 0.01 dB/(mm MHz) num cristalino sem catarata para 0.21 ± 0.02 dB/(mm MHz) num cristalino com catarata total, como indicado a Figura 4.25.

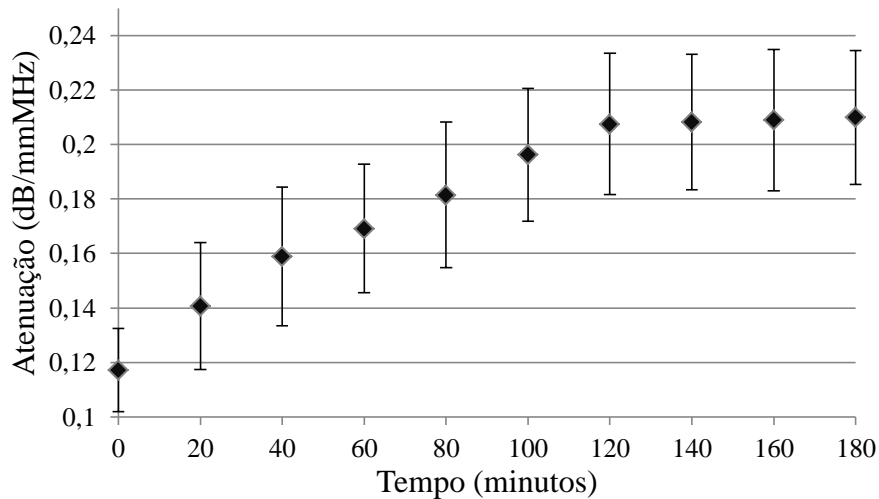


Figura 4.25 – Atenuação ao longo do tempo de imersão considerando os ecos da face anterior e posterior.

A caracterização da atenuação no cristalino pode, ainda ser realizada com recurso a um refletor plano, como ilustrado na Figura 4.26. Nesta abordagem o refletor tem por objetivo proporcionar os sinais de eco, com e sem o cristalino inserido no meio de propagação com vista ao cálculo da atenuação no cristalino.

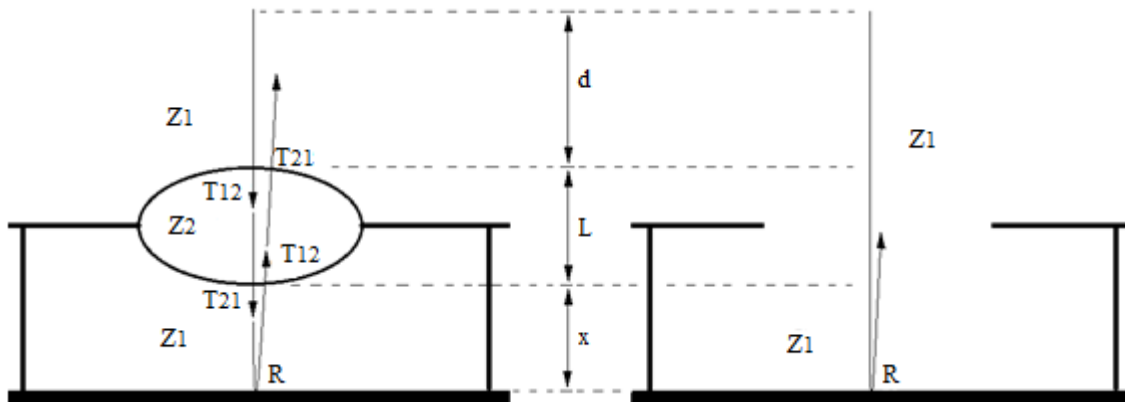


Figura 4.26 – Propagação dos ultrassons utilizando um refletor.

A figura anterior consiste na representação esquemática do percurso dos ultrassons onde, Z_1 representa a impedância do meio envolvente, Z_2 representa a impedância do cristalino, d , L e x representam as respectivas distâncias e T_{12} e T_{21} representam o coeficiente de transmissão do meio para o cristalino e do cristalino para o meio, respectivamente.

O sinal de eco obtido do refletor sem a presença do cristalino, funciona como sinal de referência e é dado por,

$$A_1 = I_0 R e^{-2\alpha_a(x-L+d)} \quad (4.28)$$

O sinal com o cristalino inserido, atendendo às fronteiras em causa, vem,

$$A_2 = I_0 T_{12} T_{21} R T_{12} T_{21} e^{-2\alpha_a x} e^{-2\alpha_c L} e^{-2\alpha_a d} \quad (4.29)$$

onde α_a representa a atenuação na água e α_c representa a atenuação no cristalino. Relacionando as equações (4.28) e (4.29),

$$\frac{A_1}{A_2} = \frac{I_0 R e^{-2\alpha_a(x-L+d)}}{I_0 T_{12}^2 T_{21}^2 e^{-2\alpha_a x} e^{-2\alpha_c L} e^{-2\alpha_a d}} \quad (4.30)$$

e simplificando o percurso dos ultrassons no meio de imersão, resulta,

$$\frac{A_1}{A_2} = \frac{e^{2\alpha_a L}}{(T_{12} T_{21})^2 e^{-2\alpha_c L}} \quad (4.31)$$

$$\frac{A_1}{A_2} (T_{12} T_{21})^2 = e^{2\alpha_a L + 2\alpha_c L} \quad (4.32)$$

$$\frac{20}{2L} \log \left(\frac{A_1}{A_2} (T_{12} T_{21})^2 \right) = \alpha_c + \alpha_a \quad (4.33)$$

Da equação (4.33), extrai-se a atenuação em função da frequência no cristalino,

$$\alpha_c = \frac{20}{2L} \log \left(\frac{A_1}{A_2} (T_{12}T_{21})^2 \right) - \alpha_a \quad (4.34)$$

Os coeficientes de transmissão podem ser representados em função das impedâncias. Assim,

$$(T_{12}T_{21})^2 = \left(\frac{2Z_2}{Z_1 + Z_2} \frac{2Z_1}{Z_1 + Z_2} \right)^2 = \left(\frac{4Z_2Z_1}{(Z_1 + Z_2)^2} \right)^2 \quad (4.35)$$

A semelhança do procedimento anterior considerou-se, para o cálculo experimental, o valor da impedância do cristalino referido na bibliografia, i.e., $1.72 \text{ kg m}^{-2} \text{ s}^{-1} (\times 10^6)$. Os espectros em amplitude para um cristalino inserido na solução ao longo de 180 minutos são ilustrados na Figura 4.27.

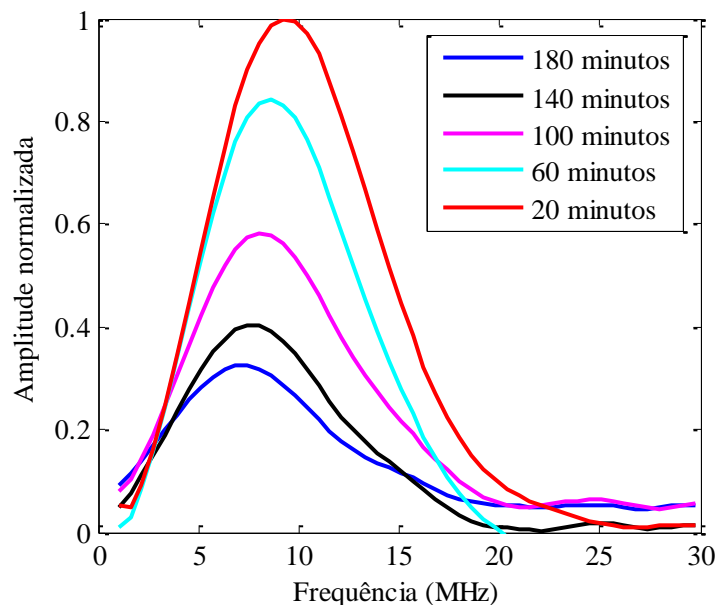


Figura 4.27 – Amplitude normalizada dos espectros para um cristalino ao longo do tempo de imersão.

De modo semelhante ao realizado para o método baseado nos ecos provenientes das fronteiras do cristalino, procedeu-se previamente à extração da característica de cada cristalino através da subtração do eco de referência. A esta diferença acresce a divisão pelo dobro da espessura do cristalino, a multiplicação por 20, afim de obter o valor em dB, e a consideração da atenuação na água, resultando deste modo os traçados mostrados na Figura 4.28.

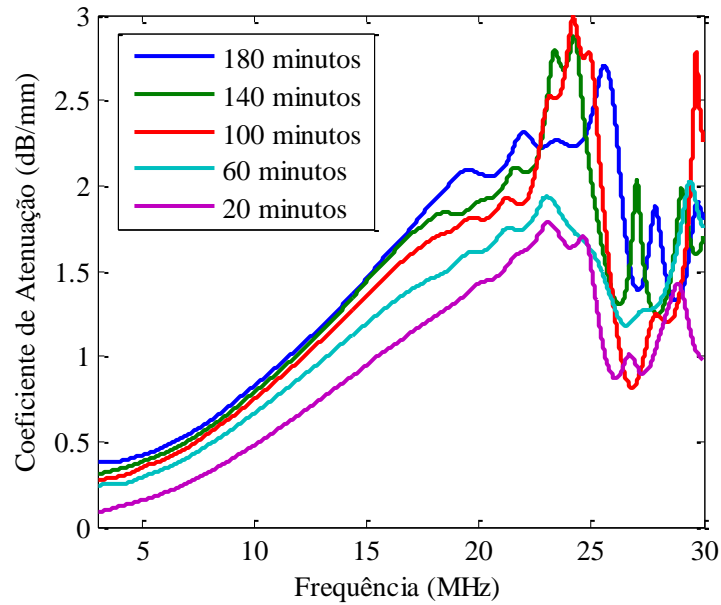


Figura 4.28 – Diferença logarítmica entre os espectros com e sem o cristalino colocado na solução, ao longo do tempo de imersão.

Também e modo semelhante, procedeu-se a uma regressão linear de todos traçados para uma gama de frequência a -3dB do eco do refletor com o cristalino inserido na solução. A evolução das características dos cristalinos em termos da média das regressões lineares para cada um dos tempos considerados, é ilustrada na Figura 4.29.

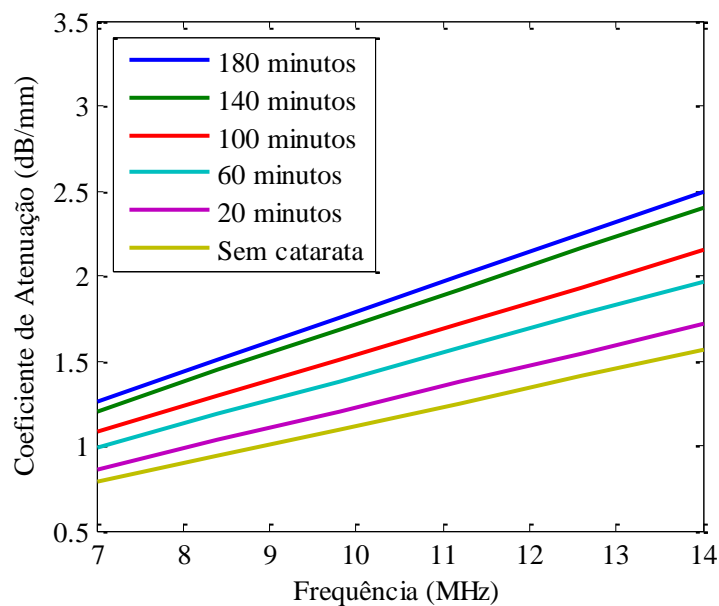


Figura 4.29 – Evolução das características dos cristalinos em termos da média das regressões lineares ao longo do tempo de imersão.

Por fim, através do declive das regressões lineares, extraiu-se o comportamento da atenuação dos cristalinos ao longo dos tempos de imersão considerados, verificando-se que esta varia de 0.11 ± 0.01 dB/(mm MHz) para um cristalino sem catarata, a 0.18 ± 0.02 dB/(mm MHz) para um cristalino com catarata total, como pode ser comprovado através da análise do gráfico da Figura 4.30. No apêndice B, Figura B.3, é apresentado o fluxograma que resume o algoritmo aplicado para a obtenção da atenuação.

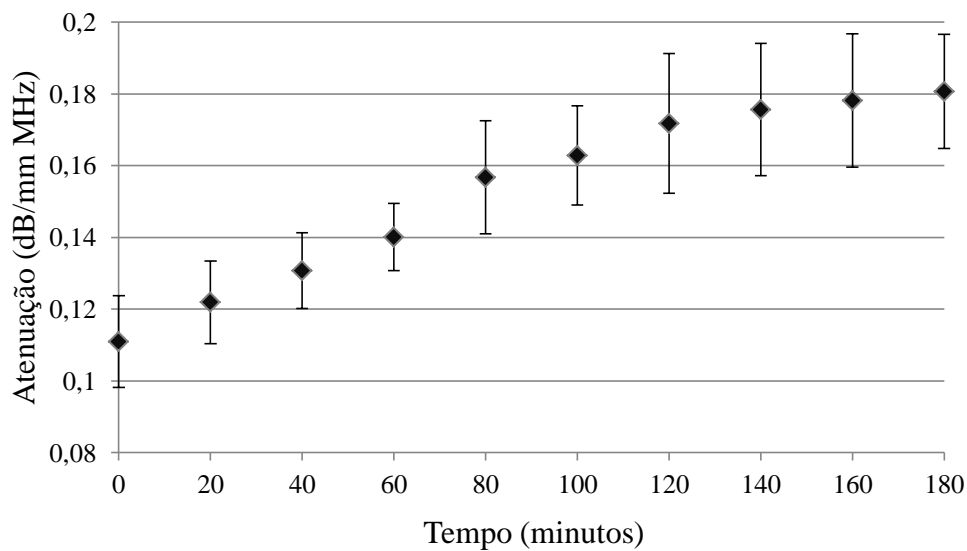


Figura 4.30 – Atenuação no cristalino com recurso a um refletor ao longo do tempo de imersão.

4.5.2 Análise do *backscattering*

O sinal de *backscattering* está relacionado com os *scatterers* presentes no cristalino, sendo a intensidade do eco tanto maior quanto maior for o tamanho destes *scatterers*. A atenuação pode ser obtida através da medição do *downshift* da frequência central de um pulso gaussiano, que se propaga ao longo de um determinado tecido. Esta abordagem tem em conta que as altas frequências são objeto de maior atenuação ao propagarem-se ao longo de meio com uma estrutura dispersiva. Este método baseia-se no pressuposto de que a atenuação é linearmente dependente da frequência [66].

O sinal recibo pelo transdutor proveniente do *backscattering* pode ser descrito pela equação (4.36),

$$P(f, d) = \left[\left| \frac{U_S(f)}{U_{Ref}(f)} V(f, df) \right| \right]^2 e^{-2\alpha_S d} \quad (4.36)$$

sendo $V(f, d_F)$ a função transferência do pulso de eco do transdutor; f a frequência de inspeção; df a distância focal; d a distância do transdutor à região em análise; $U_S(f)$ a amplitude do *backscattering* proveniente dos *scatterers*; $U_{Ref}(f)$ a amplitude do sinal de emissão; e α_S a atenuação proporcionada pelo *scatterers* [66].

Aproximando o termo elevado ao quadrado à uma função Gaussiana ($e^{-\frac{(f-f_0)^2}{2\sigma^2}}$) e substituindo a distância de ida e volta dos ultrassons, d , por

$$d = 2(z - z_0) \quad (4.37)$$

onde z e z_0 representam a posição dos *scatterers* e a posição do transdutor, respetivamente, obtêm-se,

$$P(f, z) = \left[\left| \frac{U_S(f)}{U_{Ref}(f)} V(f, df) \right| \right]^2 e^{-4\alpha_S z} \approx e^{\left(\frac{-(f-f_0)^2}{2\sigma^2} - 4\alpha_S z\right)} \quad (4.38)$$

onde f_0 representa a frequência central do pulso e 2σ é a largura a meia altura (FWHM) do pulso gaussiano, ou seja, a largura de banda à -3dB.

Assumindo a dependência linear da atenuação com a frequência ($\alpha_s = \beta f$) temos

$$P(f, z) = e^{[-(f^2 - 2ff_0 + f_0^2 + 8\beta f\sigma^2 z)\frac{1}{2\sigma^2}]} \quad (4.39)$$

$$P(f, z) = A_\alpha e^{\frac{-(f-f_\alpha)^2}{2\sigma^2}} \quad (4.40)$$

com

$$f_\alpha = f_0 - 4\beta\sigma^2 z \quad (4.41)$$

e

$$A_\alpha = e^{\frac{f_0^2 - f_\alpha^2}{2\sigma^2}} \quad (4.42)$$

onde β representa o coeficiente de atenuação proporcionado pelo *backscattering*. O *downshift* pode então ser obtido através da derivada parcial de f_α em função de z

$$\partial f_\alpha = -4\beta\sigma^2 \partial z \quad (4.43)$$

assim, o coeficiente de atenuação é obtido da seguinte forma,

$$\beta = -\frac{1}{4\sigma^2} \frac{\partial f_\alpha}{\partial z} \quad (4.44)$$

convertendo para dB, o coeficiente de atenuação proporcionado pelo *backscattering* proveniente do cristalino é dado por,

$$\beta = -\frac{8.686}{4\sigma^2} \frac{\partial f_\alpha}{\partial z} \quad (4.45)$$

onde $\partial f_\alpha/\partial z$ (MHz/mm) representa o declive da variação da frequência central ao longo de um determinado percurso de propagação do sinal.

A observação dos sinais *backscattering* provenientes dos cristalinos, com a progressão da catarata, permitiu concluir que apenas a região próxima da cápsula anterior era suscetível de ser caracterizada. A extensão desta região, para efeito de estudo, foi assumida ser de 3 mm, onde a relação sinal-ruído era aceitável. A Figura 4.31 ilustra um sinal *backscattering* com a referida janela representada.

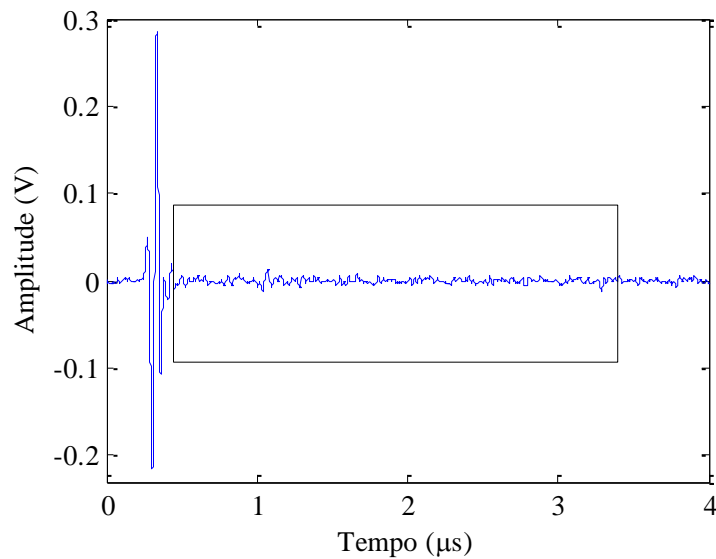


Figura 4.31 – Sinal da cápsula anterior e da região *backscattering* com 3mm de extensão.

De modo a obter-se o *downshift* da frequência com vista ao cálculo do coeficiente de atenuação β , procedeu-se a divisão do sinal amostrado com recurso à janela de *Hanning* ilustrada na Figura 4.32.

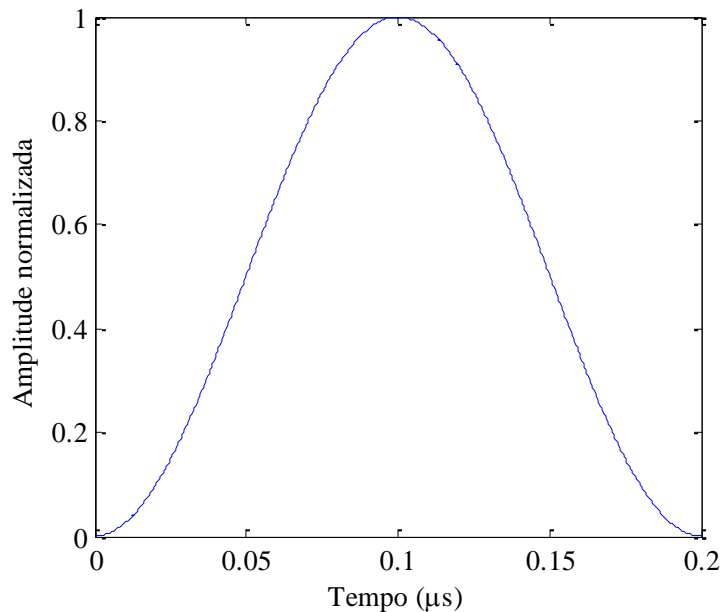


Figura 4.32 – Janela de *Hanning* utilizada para amostrar o sinal.

A janela de *Hanning* apesar de não ser a mais indicada para a análise em amplitude, quando comparada com outros tipos de janelas, apresenta a vantagem de proporcionar uma excelente resolução em frequência. A largura de cada janela foi fixada em $0,2\mu\text{s}$ (largura de pulso) por forma a obter-se informação suficiente para caracterizar a frequência do sinal. Com vista à caracterização em modo contínuo da evolução da frequência central foi, também, realizado um *overlap* de 50%, ou seja, o andamento de cada janela no tempo correspondia a 50% do sinal amostrado na janela anterior. Este procedimento garantiu que não houve perda de informação. Através da identificação da frequência central em cada uma das janelas foi obtido o declive do decaimento da frequência em função da profundidade. Nos gráficos apresentados na Figura 4.33 pode-se verificar as médias do decaimento da frequência central em função da profundidade para diferentes tempos de imersão.

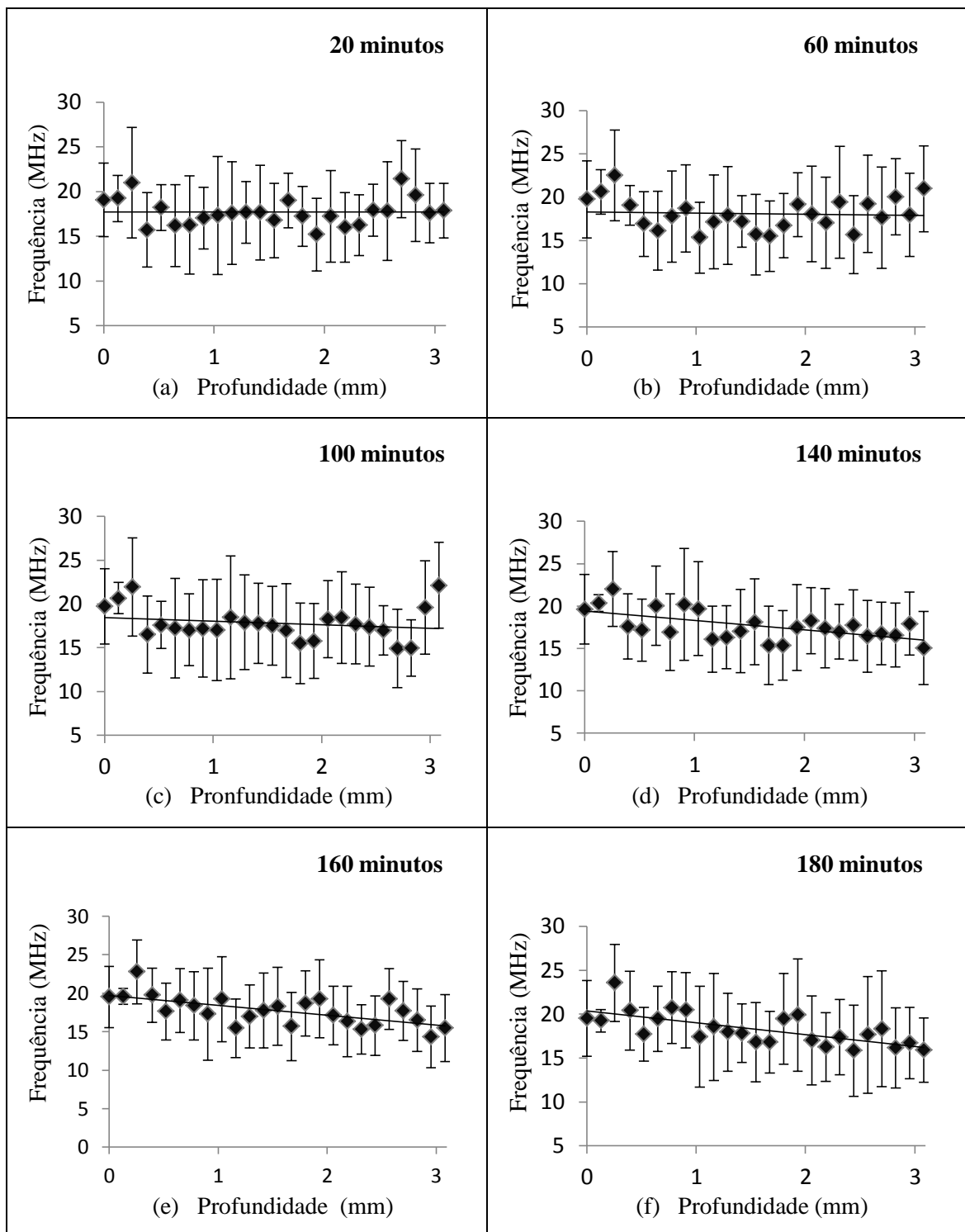


Figura 4.33 – Decaimento da frequência central em função da profundidade para os diferentes tempos de imersão: (a) – 20 minutos; (b) – 60 minutos; (c) – 100 minutos; (d) – 140 minutos; (e) – 160 minutos; (f) – 180 minutos.

Representando os diferentes declives do *downshift* pode-se observar a evolução do decaimento em frequência em função da profundidade para os diferentes tempos de imersão, como indicado na Figura 4.34.

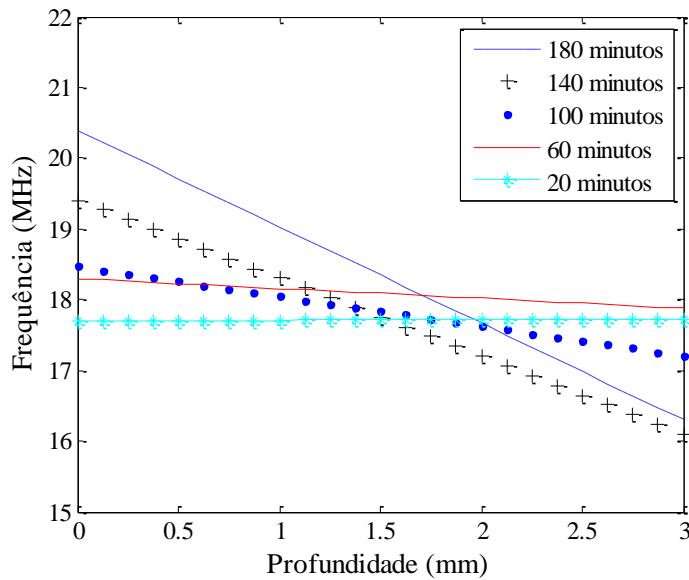


Figura 4.34 – Regressão linear do decaimento da frequência central em função da profundidade para os diferentes tempos de imersão.

Finalmente, o coeficiente de atenuação, foi obtido através da divisão do declive da regressão linear pelo quadrado da largura de banda do sinal de emissão à -3dB. No apêndice B, Figura B.4, é apresentado o fluxograma do método descrito. Na Figura 4.35 são ilustrados os valores dos coeficientes de atenuação em função do tempo de imersão. O valor do coeficiente de atenuação para um cristalino sem catarata (0 minutos) não é apresentado atendendo a inexistência de um sinal *backscattering*.

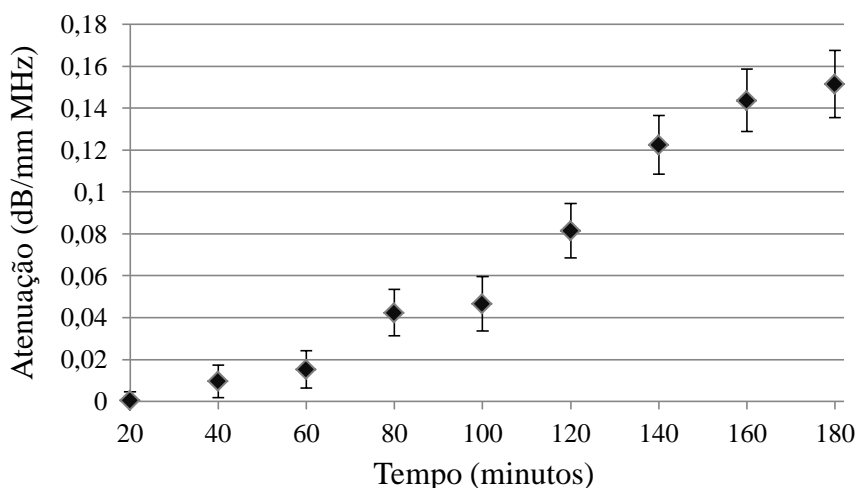


Figura 4.35 – Coeficientes de atenuação ao longo do tempo de imersão considerando o *backscattering* do sinal.

A análise apresentada anteriormente teve por base o pressuposto de que a atenuação é linearmente dependente da frequência, embora, alguns estudos refiram que a linearidade com a frequência nos tecidos biológicos varia entre 1 e 2 [67]. A estrutura do cristalino pode sofrer alterações ao longo da evolução da catarata, como é o caso da sua rigidez e opacidade. Afim de avaliar a dependência da atenuação com a frequência ao longo da progressão da catarata, procedeu-se a uma análise empírica a partir dos traçados das características dos cristalinos, (ver Fig. 4.23). O declive dos espectros proporcionaram informação acerca da dependência da atenuação com a potência da frequência, de acordo com a expressão (4.46). Assim, seleccionando uma frequência apropriada, podem ser extraídos os parâmetros n e β para cada tempo de imersão,

$$\alpha = \beta f^n \quad (4.46)$$

onde o parâmetro n corresponde a dependência da atenuação com a frequência. Assim, através da regressão potencial dos valores da atenuação para uma determinada frequência (10MHz) foi possível obter o valor de n e de β para cada tempo de imersão. A escolha desta frequência deve-se ao facto de ser um valor intermédio na região linear da diferença espectral, como mostra a Figura 4.23.

Desta forma, na Figura 4.36 são apresentados os valores da dependência da atenuação com a frequência ao longo do tempo de imersão.

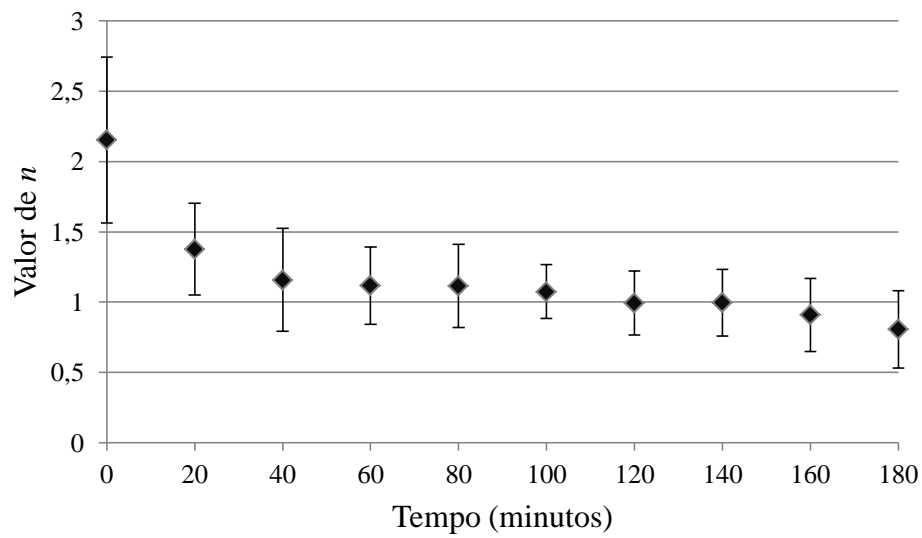


Figura 4.36 – Dependência da atenuação com a frequência (n) ao longo do tempo de imersão.

Por sua vez, a evolução de β ao longo do tempo de imersão é mostrada na Figura 4.37.

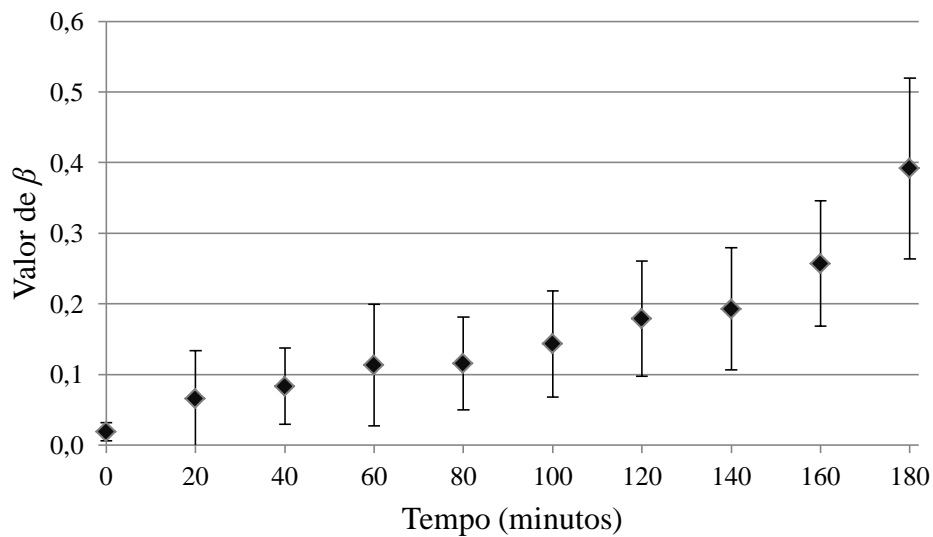


Figura 4.37 – Valores de β ao longo do tempo de imersão.

4.5.3 Discussão e conclusões

A atenuação dos ultrassons é um parâmetro que proporciona informação acerca das propriedades intrínsecas do material em estudo. Através das análises efetuadas foi possível observar que, independentemente da abordagem usada, existiu um aumento da atenuação ao longo do tempo de imersão, ou seja, ao longo da progressão da catarata.

O cálculo da atenuação através da interferência dos sinais de eco, nomeadamente a consideração da face anterior e posterior do cristalino e o recurso a um refletor plano, permitiram realizar uma análise global do estado dos cristalinos. Verificou-se, através do teste de *Kruskal-Wallis*, que em ambas as abordagens, existe uma diferença estatística entre os valores obtidos para os diferentes tempos de imersão ($p < 0.001$). Ao longo dos 180 minutos observou-se uma variação de 0.11 ± 0.02 dB/(mm MHz) a 0.21 ± 0.03 dB/(mm MHz) para a abordagem que considerou a face anterior e posterior do cristalino e um aumento de 0.11 ± 0.01 dB/(mm MHz) até 0.18 ± 0.02 dB/(mm MHz) para a abordagem que fez uso de um refletor. Para verificar a concordância entre as duas abordagens realizou-se o teste *Intraclass Correlation Coefficient* que mostrou que existe uma boa concordância entre ambas, com o valor de $ICC = 0.717$ com $p < 0.001$. Contudo, a abordagem que considera a face anterior e posterior do cristalino, apresentou uma variação superior, devendo-se ao facto do eco da cápsula posterior apresentar uma maior variação em frequência, de 28%, ao longo dos 180 minutos de imersão, enquanto que a variação em frequência do sinal obtido do refletor plano com o cristalino interposto foi de 17%. Para além da variação em frequência e, ao contrário do verificado na abordagem com o refletor, houve um aumento da amplitude do sinal do eco da cápsula anterior ao longo do tempo de imersão. Estas variações refletem-se nos declives dos espectros característicos de cada cristalino.

Ambas as abordagens são suscetíveis a erros, essencialmente, associados à medição da espessura do cristalino. Para além desse erro, existe o facto da amplitude do eco da cápsula posterior diminuir ao longo da progressão da catarata, dificultando a caracterização em frequência a semelhança do eco da cápsula posterior de um cristalino sem catarata. É por esta razão, que não foi encontrado nenhum estudo realizado com transdutores de elevada frequência (> 30 MHz) que aborde a face anterior e posterior do cristalino para o cálculo da atenuação. Como trabalho futuro seria interessante encontrar a frequência ótima para analisar este tipo de tecido e, assim, poder aproximar os valores

das duas abordagens para estados avançados de catarata. Apesar das limitações apresentadas e dado a abordagem que considera a face anterior e posterior do cristalino ser não-invasiva considera-se que poderá ser uma boa ferramenta de apoio ao diagnóstico da catarata no seu estado inicial.

No que respeita à progressão da catarata verificou-se que em ambas as abordagens não houve uma diferença estatisticamente significativa após os 120 minutos de imersão (Apêndice C - Tabela C.2). Este facto revela que não existe um aumento progressivo da atenuação dos ultrassons após os 120 minutos de imersão.

Na caracterização dos cristalinos através do parâmetro atenuação, levado a efeito ao longo das secções anteriores, foram efetuadas correções nas expressões de cálculo através da inclusão dos coeficientes de transmissão e de reflexão. Procedeu-se, também, à correção da atenuação no método do refletor para compensar a geometria da configuração.

De modo a avaliar o efeito destas correções no cálculo da atenuação para ambas as abordagens, foram calculados e comparados os valores da atenuação com e sem correções. Na abordagem que considerou a face anterior e posterior, para a frequência de 10MHz, obteve-se para um cristalino sem catarata o mesmo valor de atenuação sem e com as correções, 1.12 dB/mm. Por sua vez, para um cristalino com catarata total, obteve-se 2.13 dB/mm e 2.12 dB/mm sem e com as correções, respetivamente. Apesar da excelente concordância entre os valores da atenuação com e sem correções (ICC=0.985) verificou-se que esses valores são estatisticamente diferentes ($p < 0.001$).

O mesmo procedimento foi realizado para o cálculo da atenuação com recurso a um refletor plano. Nesta abordagem, foram realizados quatro estudos, nomeadamente, cálculo da atenuação do cristalino sem correções; cálculo da atenuação considerando apenas os coeficientes de transmissão; cálculo da atenuação com compensação da atenuação devido à geometria da configuração e cálculo da atenuação considerando ambas as correções. Os valores obtidos para a frequência de 10MHz foram de 1.14, 1.13, 1.13 e 1.12 dB/mm para um cristalino sem catarata e de 1.61, 1.60, 1.60 e 1.59 dB/mm para um cristalino com catarata total, respetivamente. A semelhança da análise realizada para a primeira abordagem, verificou-se que apesar de apresentarem uma excelente concordância (ICC=0.97), também são significativamente diferentes ($p < 0.001$). Por este motivo, as correções efetuadas no cálculo da atenuação devem ser tomadas em consideração, reforçadas pelo facto da dureza da catarata poder ser

extrapolada a partir da atenuação, com vista à seleção da energia de facoemulsificação ótima.

A abordagem utilizada para calcular a atenuação através do sinal proveniente de *backscattering*, permitiu concluir que apenas a região próxima da cápsula anterior era suscetível de ser caracterizada. Nesta abordagem foi possível observar um aumento de 0.0006 dB/(mm MHz) para 20 minutos de imersão até 0.15 dB/(mm MHz) ao fim de 160 minutos de imersão. O comportamento da atenuação ao longo do tempo de imersão, apresentado na Figura 4.35, não é semelhante às duas primeiras abordagens, devendo-se ao facto de, e ao contrário das duas primeiras abordagens, estar a ser analisada apenas uma pequena região do cristalino. Para além disso, o procedimento da análise do sinal de *backscattering* também proporciona uma maior variação da atenuação comparativamente às duas primeiras abordagens, devendo-se a inexistência de *scatterers* na formação inicial da catarata que proporcionem um sinal *backscattering* significativo. Uma solução para contornar esta dificuldade consiste na utilização de um transdutor com uma frequência central mais elevada. Este método revela-se assim pouco eficaz na deteção das fases iniciais de formação de catarata.

Por fim, foi estudada a dependência da atenuação com a frequência ao longo do tempo de imersão. O cálculo da atenuação através do uso de sinais *backscattering*, referido na bibliografia, parte do pressuposto que a atenuação é linearmente dependente com a frequência ($n=1$). No entanto, através da análise efetuada, observou-se uma redução dessa dependência (valor de n) ao longo do tempo de imersão, mais concretamente, para um cristalino sem catarata, obteve-se uma dependência quadrática com a frequência, diminuindo com a progressão da catarata.

Nos materiais sólidos com uma estrutura de grão bem definida, a dependência com a frequência depende da relação entre o comprimento de onda e o diâmetro do grão. Para um comprimento de onda aproximadamente igual ao diâmetro do grão, o valor de n é igual a dois e corresponde a uma distribuição estocástica dos *scatterers*. Por sua vez, quando o diâmetro de grão tende a ser maior que o comprimento de onda, o valor de n desce para um, correspondendo a uma dispersão difusa dos *scatterers*. Apesar de não ser uma regra definida para os tecidos biológicos, pode-se assemelhar a compactação proteica a uma estrutura de grão. Assim, dado que ao longo da evolução da catarata existe um aumento da agregação proteica, em várias ordens de grandeza, é

admissível que a dependência com a frequência não seja linear ao longo da evolução da catarata.

Na análise das duas primeiras abordagens pode-se concluir que o método que considera os ecos das cápsulas é mais apropriada para o diagnóstico e análise global do cristalino uma vez que os ecos da face anterior e posterior podem ser adquiridos de forma não-invasiva. No que diz respeito ao método com recurso à análise do sinal de *backscattering*, este pode ser adequado para a caracterização estádios avançados da catarata. Além disso, o facto deste método apenas necessitar de um só sinal torna-o interessante para o cálculo da atenuação em tempo real, através da integração num sistema de facoemulsificação.

4.6 Distribuição de Nakagami

A distribuição de Nakagami tem sido utilizada em diversas aplicações nomeadamente na caracterização das ligações rádio [68]. Mais recentemente, esta distribuição tem sido usada na caracterização de tecidos biológicos, fazendo uso dos sinais *backscattering*, com vista ao diagnóstico de potências lesões [69].

A equação que caracteriza o sinal *backscattering* $f(r)$ através da distribuição de Nakagami é expressa por,

$$f(r) = \frac{2m^m r^{2m-1}}{\Gamma(m)\Omega^m} e\left(-\frac{m}{\Omega}r^2\right), \quad r>0 \quad (4.47)$$

onde Γ representa a função gama, Ω , representa o parâmetro de escala e m simboliza o parâmetro de Nakagami [70, 71]. Estes dois últimos são os parâmetros que caracterizam a distribuição de Nakagami.

O valor de Ω é obtido através da média quadrática do sinal analisado, ou seja,

$$\Omega = E(r)^2 \quad (4.48)$$

sendo E a média do sinal *backscattering* analisado. Por sua vez, o parâmetro m de Nakagami é calculado através da seguinte expressão,

$$m = \frac{[E(r)^2]^2}{E[r^2 - E(r^2)]^2} \quad (4.49)$$

O parâmetro m varia consoante a distribuição da amplitude média dos sinais de *backscattering*, com valor compreendido entre 0 e 1 nos casos em que a distribuição é *pre-Rayleigh*. Pode ser aproximadamente 1 caso se verifique uma distribuição de *Rayleigh* e maior que 1 quando a distribuição for *post-Rayleigh* [70, 71].

O sinal amostrado corresponde ao sinal representado na Figura 4.31. A semelhança dos métodos referidos anteriormente, a componente DC foi removida através da subtração da média do sinal amostrado. Antes de proceder a distribuição de Nakagami foi obtido o envelope de onda do sinal *backscattering*, sendo este um requisito necessário a realização da distribuição. Assim, obteve-se o módulo do sinal *backscattering*, aplicando-se, posteriormente, um filtro passa baixo com o objetivo de suavizar as transições de alta frequência. A análise do *backscattering* do cristalino foi realizada com recurso à janela com uma largura três vezes superior à largura de pulso ($0.6\mu\text{s}$) [53, 72]. O fluxograma do procedimento descrito anteriormente é apresentado no apêndice B, Figura B.5.

Na Figura 4.38 é apresentado o parâmetro de escala, Ω , em função do tempo de imersão. Através deste parâmetro é possível observar a variação da intensidade média do sinal de *backscattering* ao longo do tempo de imersão. Os resultados mostram que este parâmetro não possui uma variação consistente ao longo do tempo de imersão, revelando que a intensidade do sinal de *backscattering*, medida com um transdutor de 25MHz, não é um bom indicador para caracterizar a evolução da catarata. Assim, pode-se concluir que apesar da rigidez do cristalino aumentar com a progressão da catarata, verificado através do aumento da atenuação, não representa necessariamente um aumento consistente da amplitude do sinal *backscattering*.

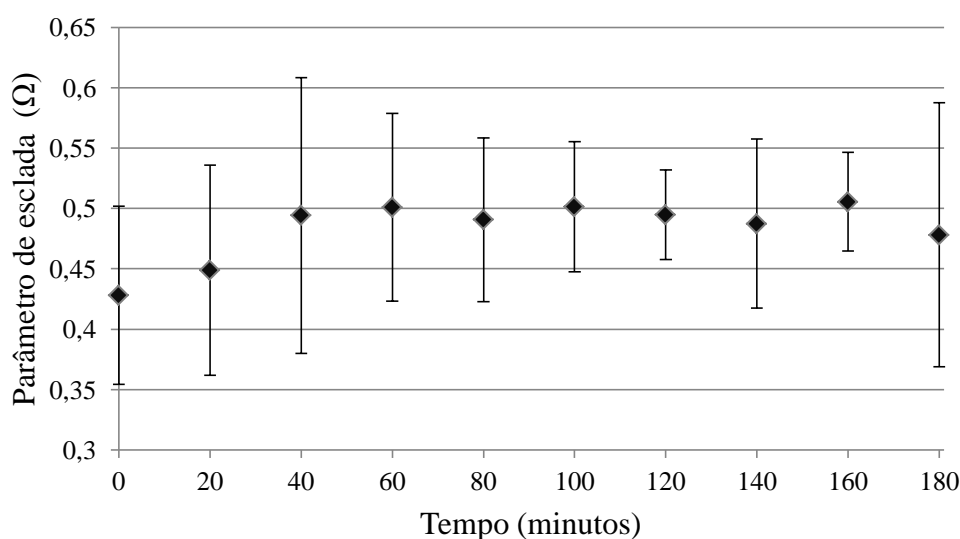


Figura 4.38 – Parâmetro de escala, Ω , em função do tempo de imersão.

Na Figura 4.39 é apresentado a variação média do parâmetro m de Nakagami ao longo da evolução da catarata, observando-se um aumento de 0.63 ± 0.18 para 0.89 ± 0.15 ao longo dos 180 minutos considerados. Isto evidencia que o envelope de onda do sinal *backscattering* tende a variar de uma distribuição pre-Rayleigh para uma distribuição Rayleigh ao longo do tempo de imersão.

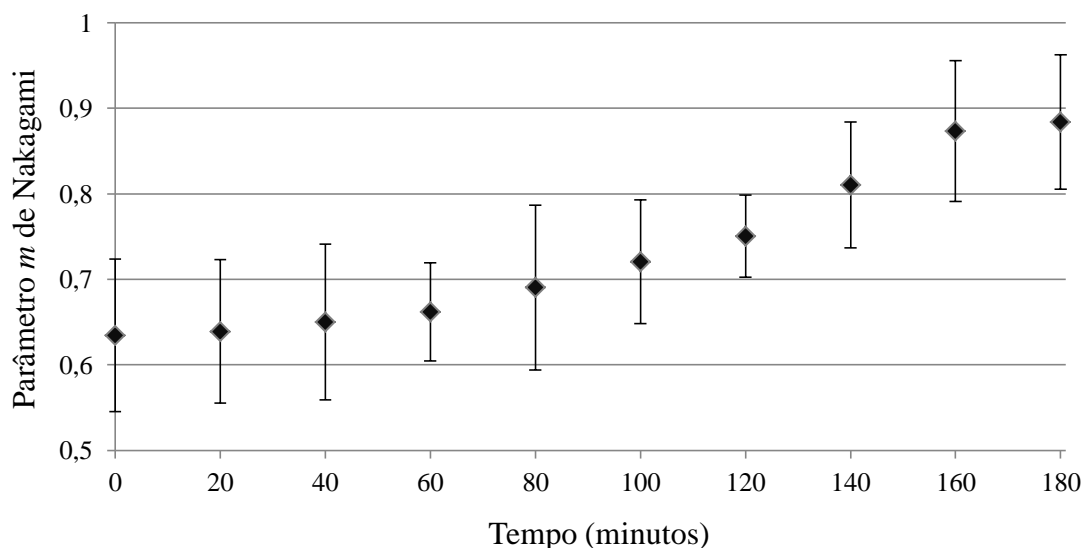


Figura 4.39 – Parâmetro m de Nakagami em função do tempo de imersão.

O processo de formação da catarata está associado ao aumento da rigidez que contribui para o aumento do coeficiente de atenuação tal como verificado anteriormente. O aumento do coeficiente de atenuação é causado pela dispersão e absorção dos ultrassons ao longo do cristalino, fenómenos que têm por base interações bioquímicas, a mudança das propriedades elásticas e outras interações que contribuem a perda de energia sob a forma de calor. No entanto, a catarata poderá ser definida como um processo de mudança do arranjo espacial e da concentração dos *scatterers*. Assim, através do parâmetro m de Nakagami, foi possível estimar a concentração de *scatterers* nos cristalinos. O facto do parâmetro de m Nakagami não necessitar de um refletor torna-o interessante para o diagnóstico da catarata de forma não invasiva. A esta vantagem acresce o facto de apenas necessitar uma porção de sinal (três vezes a largura de pulso) para caraterizar o cristalino revelando-se interessante no estudo e caraterização local da catarata.

4.7 B-scan

Com o intuito de observar o cristalino através do *modo brilho (B-scan)*, foi realizada a aquisição de múltiplos sinais de modo A ao longo de um dos eixos do cristalino. A aquisição iniciou-se antes de obter o eco da cápsula anterior e terminou após a recepção do eco da cápsula posterior.

O passo entre cada um dos sinais adquiridos foi de 10 micrómetros, permitindo criar uma matriz do cristalino com 90 colunas por 10000 linhas, onde o número de linhas corresponde ao número de pontos amostrados no osciloscópio e o número de colunas aos sinais adquiridos através do modo A ao longo do eixo. Uma vez que o modo B representa a intensidade do modo A em tons de brilho obteve-se o envelope de cada sinal através do respectivo módulo. Dado o elevado número de linhas comparativamente ao número de colunas, foi necessário fazer um reajustamento da matriz, através da função *resize* do Matlab, obtendo-se uma matriz com 500 linhas por 90 colunas.

O passo seguinte consistiu em converter a matriz numa escala 0-255, imagem *gray scale*, onde o valor de 0 correspondia ao preto, e 255 ao branco, tendo sido posteriormente convertida no formato *uint8*¹⁰. Por fim, foi aplicado o filtro *Sobel* com o intuito de eliminar o ruído presente na imagem, obtendo-se o resultado apresentado na Figura 4.40.



Figura 4.40 – *B-scan* do cristalino com catarata total.

¹⁰ Representação binária com 8bits correspondendo aos números decimais de 0-255.

Na Figura 4.40 é possível observar a cápsula anterior de um cristalino com catarata total e o *backscattering* da região contígua a cápsula. Na secção anterior, verificou-se através do parâmetro de escala de Nakagami que a amplitude do *backscattering* não é um bom indicador do estado da catarata. Assim, e uma vez que o *B-scan* depende da amplitude dos sinais, não será de esperar que esta técnica permita caraterizar o cristalino. No entanto, a combinação desta técnica com outras características do cristalino, como a velocidade, a atenuação, o parâmetro m de Nakagami poderá originar uma boa ferramenta para analisar o cristalino.

O *B-scan* da figura anterior apresenta uma resolução muito baixa, nomeadamente, a resolução lateral. Este problema, tendo em conta a configuração experimental utilizada, pode ser resolvido através do varrimento com um passo de $1\mu\text{m}$ (resolução máxima do sistema de varrimento XYZ utilizado) o que aumentaria a resolução por um fator de 10. Na figura anterior, verifica-se também que a amplitude do sinal tende a diminuir nas regiões laterais. Este fenómeno deve-se ao aumento da dispersão do feixe dos ultrassons com a curvatura do cristalino. Portanto, num procedimento futuro, o *B-scan* poderá ser melhorado através da adaptação da configuração experimental à curvatura do cristalino, ou então, com a introdução de uma função de ganho no procedimento.

4.8 Sonograma

O sonograma é uma tecnologia muito utilizada na análise e reconhecimento de voz e pode ser entendido como um espectrograma do som. O espectrograma representa a evolução em frequência do espectro do sinal em função do tempo, com a amplitude representada numa escala de cores. Apesar de não ser uma tecnologia vulgarmente usada na inspeção ultrassónica foi considerada no estudo da caracterização da catarata, uma vez que, e como demonstrado anteriormente, existe um decaimento da frequência com a evolução do estado de catarata. Assim procedeu-se a obtenção do sonograma do cristalino, apresentado na Figura 4.41, de modo a obter outra perspetiva da evolução em frequência ao longo do cristalino.

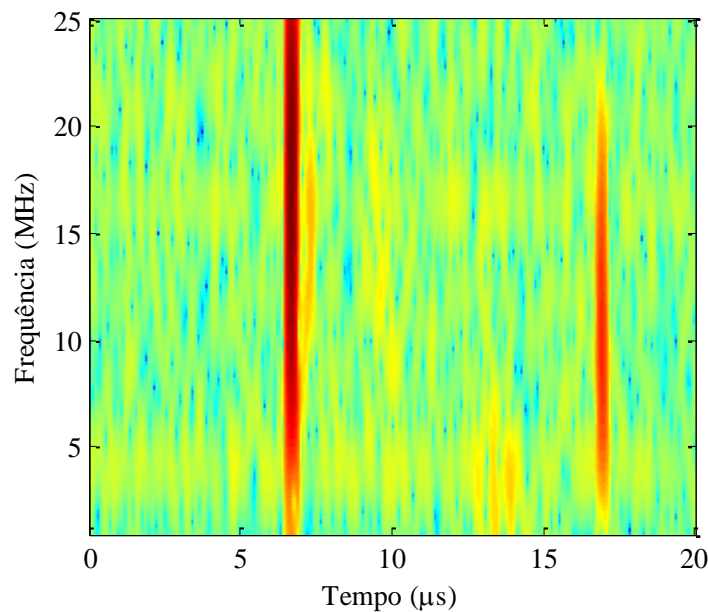


Figura 4.41 – Sonograma do cristalino.

Na figura anterior pode-se observar, com tonalidade vermelha, os ecos da cápsula anterior e posterior. No entanto, não foi possível identificar nitidamente os sinais associados ao *backscattering* devido ao ruído presente na imagem. Por conseguinte, e de forma a melhorar a nitidez da imagem foi aplicado um *threshold* que rejeitava todos os valores com amplitude inferior à -30 dB em relação ao valor máximo da imagem.

Nos resultados apresentados na Figura 4.42 é possível observar o sonograma de um cristalino sem e com catarata total após a aplicação do *threshold*.

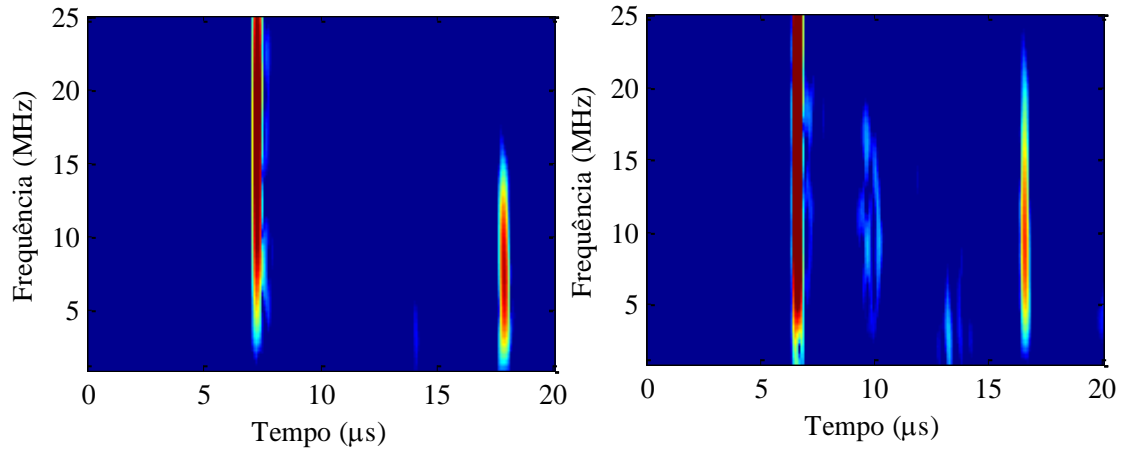


Figura 4.42 – Sonograma de um cristalino sem catarata (esquerda) e com catarata total (direita).

O método da atenuação que analisava o *backscattering* da região contígua a cápsula anterior do cristalino demonstrou que existe um decaimento da frequência central ao longo do tempo de imersão. Através da Figura 4.42 é possível observar que, para além da região contígua a cápsula do cristalino, existem outras regiões que são passíveis de análise, uma vez que, existe um aumento dos sinais detetados no núcleo e na região do córtex posterior. Estes resultados sugerem que num trabalho futuro, estas regiões podem ser utilizadas para análise da atenuação através do método da análise dos sinais de *backscattering*.

5 Conclusões

A caracterização da catarata por ultrassons pode ser realizada através de diferentes abordagens. Neste capítulo são apresentadas as principais conclusões resultantes do estudo teórico, da observação laboratorial e do processamento de sinal em Matlab de cada uma delas. Para finalizar, são apresentadas algumas sugestões de trabalhos de investigação futuros.

5.1 Conclusões gerais

Este projeto teve por objetivo a caracterização da catarata com recurso a técnicas baseadas em ultrassons. A caracterização foi realizada em cristalinos de suínos por possuírem um coeficiente de atenuação muito similar ao dos humanos, sendo deste modo um bom modelo animal para testar a técnica e avaliar as diferentes abordagens com vista à caracterização da catarata. A catarata foi então induzida por imersão numa solução constituída por etanol, 2-propanol e formalina num rácio de 3:3:4. Os cristalinos permaneceram imersos na solução durante 180 minutos, possibilitando a análise dos mesmos ao longo de diferentes estádios de catarata.

O cristalino e o transdutor, foram imersos na solução necessária para induzir a catarata a uma temperatura controlada, tendo sido realizadas aquisições de dados, através da técnica de pulso-eco, de 20 em 20 minutos até 180 minutos, estado em que o cristalino se encontrava totalmente opaco.

A caracterização do cristalino foi realizada, numa primeira fase, com recurso a técnicas baseadas na velocidade de propagação e na atenuação acústica. As análises baseadas na velocidade foram: análise no tempo, análise em frequência e a análise com recurso a um refletor plano. Por sua vez, o cálculo da atenuação acústica baseou-se na interferência dos sinais de eco, nomeadamente, os ecos das faces anterior e posterior do cristalino e os ecos obtidos de um refletor plano. Ainda relativamente a atenuação, foi estudado o sinal de *backscattering* e a dependência da atenuação com a frequência.

Procedeu-se ao tratamento estatístico para explorar as diferenças entre as abordagens utilizadas, bem como a consistência dos resultados obtidos, tendo sido utilizados dois testes não-paramétricos, o *Wilcoxon* e o *Kruskal-Wallis*, que avaliaram a diferença estatística entre os resultados obtidos, e o teste *Intraclass Correlation Coefficient* que estudou a consistência entre abordagens.

O trabalho experimental realizado neste projeto de mestrado demonstrou que é possível caracterizar o cristalino através de um transdutor com uma frequência central de 25MHz. Foi possível verificar que a velocidade de propagação dos ultrassons aumenta com o estado de catarata, sendo a variação, em 180 minutos de imersão, aproximadamente, 4.5%. A análise estatística efetuada sobre os valores obtidos também demonstrou que existe uma diferença significativa entre todos os grupos de imersão, ou seja, ao longo do estado evolutivo da catarata, podendo-se concluir que a velocidade poderá ser utilizada para identificar com precisão o estado da catarata. Por fim, relativamente a velocidade propagação, conclui-se que, os métodos que apenas necessitam dos sinais das cápsulas são mais adequados ao diagnóstico clínico, enquanto, o método que utiliza o refletor é mais propício na intervenção cirúrgica, podendo ser integrado num dispositivo de facoemulsificação.

No que respeita à caracterização do cristalino baseado na atenuação, verificou-se que existe um aumento da atenuação com a progressão da catarata. As duas abordagens usadas para analisar os cristalinos através interferência dos sinais de eco apresentaram uma boa concordância. A representação gráfica dos valores obtidos e a análise estatística mostraram que o valor da atenuação tendia a estabilizar ao fim de 120

minutos de imersão dos cristalinos. Para além do comportamento da atenuação, também foi estudado a influência da inclusão dos coeficientes de transmissão e de reflexão no cálculo da atenuação, verificando-se que poderão assumir um papel significativamente importante para a determinação da energia ótima de facoemulsificação.

O cálculo da atenuação através da análise de sinais *backscattering* também apresentou bons resultados observando-se uma evolução ao longo da progressão da catarata. Este método partiu do pressuposto que a sua dependência com a frequência era linear ao longo da evolução da catarata. No entanto, como foi demonstrado neste trabalho, a dependência da atenuação com a frequência varia com aumento da agregação proteica ao longo da evolução da catarata, originando uma atenuação com uma dependência não linear com a frequência.

Procedeu-se, ainda, à caracterização dos cristalinos através da distribuição de Nakagami. Nesta caraterização observou-se a evolução do parâmetro-*m* ao longo do tempo de imersão, indicando que a distribuição dos *scatterers* varia de uma distribuição pre-Rayleigh para uma distribuição Rayleigh ao longo do tempo de imersão. Ainda através desta distribuição verificou-se que não é possível caraterizar o cristalino com base na amplitude do sinal *backscattering*, uma vez que não existe uma evolução consistente ao longo do tempo de imersão.

Para além do trabalho descrito anteriormente, procedeu-se também, a análise através do modo Brilho e a obtenção do sonograma do cristalino. Através do *B-scan* verificou-se que a amplitude do sinal de *backscattering* não permite caraterizar o estado da catarata. No entanto, a combinação desta técnica com outras características do cristalino poderá originar uma boa ferramenta para identificar a localização das regiões mais rígidas. Por sua vez, o sonograma do cristalino permitiu a análise em frequência de todo o sinal ao longo do tempo de imersão, verificando-se que, para além da região contígua à capsula anterior do cristalino, existem outras regiões passíveis de serem analisadas através do sinal de *backscattering*, permitindo, perceber a evolução e disposição da catarata ao longo do cristalino.

A identificação da região mais rígida ou que necessita maior energia de facoemulsificação poderá trazer vantagens futuras no processo clínico de tratamento da catarata uma vez que, pode ser feita a intervenção em pontos específicos e ter diferentes formas de intervenção, quer no processo inicial de formação da catarata quer em situações avançadas com rigidez não uniforme.

5.2 Trabalhos futuros

Este estudo demonstrou que é efetivamente possível caracterizar a catarata por ultrassons. Contudo identificou-se, ao longo do desenvolvimento do projeto, alguns trabalhos de investigação que, em caso de concretização, poderão trazer contributo científico na caracterização do cristalino por ultrassons.

Os resultados experimentais neste projeto de mestrado correspondem aos sinais adquiridos no eixo vertical do cristalino. Seria interessante, num trabalho futuro, tendo em atenção a dispersão do feixe, explorar as regiões corticais do cristalino. Assim, e fazendo-o para todo o cristalino, obter-se-á uma matriz do cristalino correspondente às velocidades de propagação e às atenuações. A combinação destas características com o *B-scan* possibilitará uma boa ferramenta para identificar as regiões mais rígidas do cristalino.

Verificou-se que os métodos que abordavam a atenuação através interferência dos sinais de eco apresentavam uma certa discrepância de valores para tempos de imersão maiores. Esta discrepância pode, no futuro, ser eliminada, ao encontrar-se uma frequência ótima para análise do cristalino.

Ainda relativamente ao *backscattering*, e dado a possibilidade do valor da atenuação não variar linearmente com a frequência, seria pertinente desenvolver uma nova abordagem para o cálculo da atenuação através da análise de sinais *backscattering* que tivesse em conta esta variação da dependência.

Bibliografia

- [1] W. H. Organization, “State of the world’s sight. vision 2010: the right to sight,” tech. rep. World Health Organization, 1999-2005.
- [2] Pereira A, Porfírio F, Freitas L, Belfort R. “Ultrasound energy and endothelial cell loss with stop-and-chop and nuclear phacoemulsification.” *Journal of cataract and refractive surgery*, vol. 32, no. 10, pp. 1661–1666, 2006.
- [3] Gogate P, Ambardekar P, Kulkarni S, Deshpande R, Deshpande M. “Comparison of endothelial cell loss after cataract surgery: phacoemulsification versus manual small-incision cataract surgery: six-week results of a randomized control trial.” *Journal of cataract and refractive surgery*, vol. 36, no. 2, pp. 247–253, 2010.
- [4] Dome F. *Estudo Do Olho Humano Aplicado a Optometria*, 4ª ed. São Paulo: Senac, 2001, p. 223.
- [5] Drak R, Vogl W, Mitchell W. *Gray’s Anatomy for Students*, 2ª ed. Churchill Livingstone, 2009, p. 1136.
- [6] Wikipédia (2012). “Olho Humano”. Consultado em Fevereiro de 2012, em http://pt.wikipedia.org/wiki/Olho_humano.
- [7] Dubbelman M, Van der Heijde G, Weeber H, Vrensen G. “Changes in the internal structure of the human crystalline lens with age and accommodation.” *Vision Research*, vol. 43, no. 22, pp. 2363–2375, 2003.
- [8] Chien C, Huang T, Schachar R. “Analysis of human crystalline lens accommodation.” *Journal of biomechanics*, vol. 39, no. 4, pp. 672–680, 2006.
- [9] Koretz F, Kaufman P, Neider M, Goeckner P. “Accommodation and presbyopia in the human eye—aging of the anterior segment.” *Vision Research*, vol. 29, no. 12, pp. 1685–1692, 1989.
- [10] Machado J. *Óptica Passo a Passo - do Atendimento ao Laboratório*, 1ª ed. Rio de Janeiro: Senac, p. 172, 2009.
- [11] Cunha O. “Manual de oftalmologia veterinária.” Palotina: UFPR, 2008.
- [12] Bloemendal H, Jong W, Jaenicke R, Lubsen N, Slingsby C, Tardieu A. “Ageing and vision: structure, stability and function of lens crystallins.” *Progress in biophysics and molecular biology*, vol. 86, no. 3, pp. 407–485, 2004.
- [13] Li H, Li C, Lu Q, Su T, Ke T, Li D, Yuan M, Liu J, Ren X, Zhang Z, Zeng S, Wang Q, Liu M. “Cataract mutation P20S of alphaB-crystallin impairs chaperone activity of alphaA-crystallin and induces apoptosis of human lens epithelial cells.” *Biochimica et biophysica acta*, vol. 1782, no. 5, pp. 303–309, 2008.
- [14] Asherie N. “Blind attraction: the mechanism of an inherited congenital cataract.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 108, no. 2, pp. 437–438, 2011.

- [15] Beal M. "Oxidatively modified proteins in aging." *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 32, no. 9, pp. 797–803, 2002.
- [16] Vranova E. "Signal transduction during oxidative stress." *Journal of Experimental Botany*, vol. 53, no. 372, pp. 1227–1236, 2002.
- [17] Lee S, Jeong E, Jeong J, Shin D, Lee H, Kim H, Lim J, Lee J, Cho S, Kim M, Wee W, Lee J, Kim I. "Cysteamine prevents the development of lens opacity in a rat model of selenite-induced cataract." *Investigative ophthalmology & visual science*, vol. 53, no. 3, pp. 1452–1459, 2012.
- [18] Shinohara T, Ikesugi K, Mulhern M. "Cataracts: role of the unfolded protein response." *Medical hypotheses*, vol. 66, no. 2, pp. 365–370, 2006.
- [19] Gupta P, Johar K, Vasavada A, "Causative and preventive action of calcium in cataractogenesis." *Acta pharmacologica Sinica*, vol. 25, no. 10, pp. 1250–1256, 2004.
- [20] Li H, Lim J, Liu J, Wong D, Foo Y, Sun Y, Wong T. "Automatic detection of posterior subcapsular cataract opacity for cataract screening." *Conference proceedings : Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Conference*, vol. 2010, pp. 5359–5362, 2010.
- [21] Brian G, Taylor H. "Round Table Cataract blindness – challenges for the 21st century." *Bulletin of the World Health Organization*, vol. 79, no. 8, pp. 249–256, 2001.
- [22] Li H, Lim J, Liu J, Wong D, Tan N, Lu S, Zhang Z, Wong T. "Computerized Systems for Cataract Grading." *2^o International Conference on Biomedical Engineering and Informatics*, pp. 1–4, 2009.
- [23] Rammaert B, Lanternier F, Poirée S, Kania R, Lortholary O. "Diabetes and mucormycosis: A complex interplay." *Diabetes & Metabolism*, 2012.
- [24] Bron A, Sparrow J, Brown N, Harding J, Blakytyn R. "The lens in diabetes." *Eye (London, England)*, vol. 7, pp. 260–275, 1993.
- [25] Agarwal A, Kumar D. "Cost-effectiveness of cataract surgery." *Current opinion in ophthalmology*, vol. 22, no. 1, pp. 15–18, 2011.
- [26] Linebarger E, Hardten D, Shah G, Lindstrom R. "Phacoemulsification e Modern Cataract Surgery." *Survey of Ophthalmology*, vol. 44, no. 2, pp. 123–147, 1999.
- [27] Miyata K, Maruoka S, Nakahara M, Otani S, Nejima R, Samejima T, Amano S. "Corneal endothelial cell protection during phacoemulsification." *Journal of Cataract & Refractive Surgery*, vol. 28, no. 9, pp. 1557–1560, 2002.
- [28] Yow L, Basti S. "Physical and mechanical principles of phacoemulsification and their clinical relevance." *Indian J Ophthalmol*, vol. 45, no. 4, pp. 241–249, 1997.
- [29] Kurapkienė S, Raitelaitienė R, Paunksnis A, Lukoševičius A, Burnovas S, Paunksnienė M, Svaldenienė E, Babrauskienė V. "The relationship of ultrasonic and mechanical properties of human nuclear cataract. A pilot study." *Ultragarsas*, vol. 1, no. 1, pp. 39–43, 2005.

- [30] Mamalis N. “Femtosecond laser : The future of cataract surgery ?” *Journal of Cataract & Refractive Surgery*, vol. 37, no. 7, pp. 1177–1178, 2011.
- [31] Rosen E. “Cataract surgery evolution.” *Journal of Cartaract & Refractive Surgery*, vol. 36, no. 10, pp. 1625–1626, 2010.
- [32] Wang X, Xia X, Leung A, Xiang J, Jiang Y, Wang P, Xu J, Yu H, Bai D, Xu C. “Ultrasound induces cellular destruction of nasopharyngeal carcinoma cells in the presence of curcumin.” *Ultrasonics*, vol. 51, no. 2, pp. 165–170, 2011.
- [33] Chan V, Perlas A. *Atlas of Ultrasound-Guided Procedures in Interventional Pain Management*. New York, NY: Springer New York, p. 400, 2011.
- [34] Suri J. *Advanced Algorithmic Approaches to Medical Image Segmentation*. New York, NY: Springer New York, p. 668, 2002.
- [35] Stifter E, Sacu S, Thaler A, Weghaupt H. “Contrast acuity in cataracts of different morphology and association to self-reported visual function.” *Investigative ophthalmology & visual science*, vol. 47, no. 12, pp. 5412–5422, 2006.
- [36] Stifter E, Sacu S, Benesch T, Weghaupt H. “Impairment of visual acuity and reading performance and the relationship with cataract type and density.” *Investigative ophthalmology & visual science*, vol. 46, no. 6, pp. 2071–2075, 2005.
- [37] Tan A, Loon S, Choi H, Thean L. “Lens Opacities Classification System III: cataract grading variability between junior and senior staff at a Singapore hospital.” *Journal of cataract and refractive surgery*, vol. 34, no. 11, pp. 1948–1952, 2008.
- [38] Li H, Lim J, Liu J, Mitchell P, Tan A, Wang J, Wong T. “A computer-aided diagnosis system of nuclear cataract.” *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 57, no. 7, pp. 1690–1698, 2010.
- [39] Wong T. “Automatic opacity detection in retro-illumination images for cortical cataract diagnosis.” *IEEE International Conference on Multimedia and Expo*, pp. 553–556, 2008.
- [40] Chikamoto N, Fujitsu Y, Kimura K. “Device for cataract analysis : Development and relevance to cataract surgery.” *Journal of Cartaract & Refractive Surgery*, vol. 36, no. 1, pp. 58–65, 2009.
- [41] Tanaka T, Koshika S, Usui M. “Cataract surgery using the bimanual phacoemulsification technique with an Accurus system and Mackool microphaco tip.” *Journal of cataract and refractive surgery*, vol. 33, no. 10, pp. 1770–1774, 2007.
- [42] Chylack L, Wolfe J, Singer D, Leske M, Bullimore M, Bailey I, Friend J, McCarthy D, Wu S. “The Lens Opacities Classification System III,” *Archives of Ophthalmology*, vol. 111, no. 6, pp. 831–836, 1993.
- [43] Cheung C, Li H, Lamoureux E, Mitchell P, Wang J, Tan A, Liu J, Lim J, Aung T, Wong T. “Validity of a new computer-aided diagnosis imaging program to quantify nuclear cataract from slit-lamp photographs.” *Investigative ophthalmology & visual science*, vol. 52, no. 3, pp. 1314–1319, 2011.

- [44] Shen H, Hao H, Wei L, Wang Z. "An Image Based Classification Method for Cataract." *International Symposium on Computer Science and Computational Technology*, pp. 583–586, 2008.
- [45] Huang C, Zhou Q, Ameri H, Wu D, Sun L, Wang S, Humayun M, Shung K. "Determining the acoustic properties of the lens using a high-frequency ultrasonic needle transducer." *Ultrasound in medicine biology*, vol. 33, no. 12, pp. 1971–1977, 2007.
- [46] Huang C, Ameri H, Deboer C, Rowley A, Xu X, Sun L, Wang S, Humayun M, Shung K. "Evaluation of lens hardness in cataract surgery using high-frequency ultrasonic parameters in vitro." *Ultrasound in medicine biology*, vol. 33, no. 10, pp. 1609–1616, 2007.
- [47] Sehgal C. "Scattering of ultrasound by tissues." *Ultrasonic Imaging*, vol. 6, no. 1, pp. 60–80, 1984.
- [48] Nicholas D. "Evaluation of backscattering coefficients for excised human tissues: results, interpretation and associated measurements." *Ultrasound in Medicine & Biology*, vol. 8, no. 1, pp. 17–28, 1982.
- [49] Huang C, Tsui P, Zhou Q, Humayun M, Shung K. "In situ measurements of attenuation coefficient for evaluating the hardness of cataract lens by a high frequency ultrasonic needle transducer." *IEEE International Ultrasonics Symposium*, pp. 240–243, 2009.
- [50] Shankar P, Molthen R, Narayanan V, Reid J, Genis V, Forsberg F, Piccoli C, Lindenmayer A, Goldberg B. "Studies on the use of non-Rayleigh statistics for ultrasonic tissue characterization." *Ultrasound in Medicine & Biology*, vol. 22, no. 7, pp. 873–882, 1996.
- [51] Tsui P, Wang S. "The effect of transducer characteristics on the estimation of Nakagami parameter as a function of scatterer concentration." *Ultrasound in medicine & biology*, vol. 30, no. 10, pp. 1345–1353, 2004.
- [52] Tsui P, Huang C, Chang C, Wang S, Shung K. "Feasibility study of using high-frequency ultrasonic Nakagami imaging for characterizing the cataract lens in vitro." *Physics in medicine and biology*, vol. 52, no. 21, pp. 6413–6425, 2007.
- [53] Tsui P, Chang C. "Imaging local scatterer concentrations by the Nakagami statistical model." *Ultrasound in medicine & biology*, vol. 33, no. 4, pp. 608–619, 2007.
- [54] De Korte C, Van Der Steen A, Thijssen J, Duindam J, Otto C, Puppels G. "Relation between local acoustic parameters and protein distribution in human and porcine eye lenses." *Experimental eye research*, vol. 59, no. 5, pp. 617–627, 1994.
- [55] Van Der Steen A, De Korte C, Thijssen J. "Ultrasonic spectroscopy of the porcine eye lens." *Ultrasound in Medicine & Biology*, vol. 20, no. 9, pp. 967–974, 1994.
- [56] Manikandan R, Thiagarajan R, Beulaja S, Chindhu S, Mariammal K, Sudhandiran G, Arumugam M. "Anti-cataractogenic effect of curcumin and aminoguanidine against selenium-induced oxidative stress in the eye lens of Wistar rat pups: An in vitro study using isolated lens." *Chemico-biological interactions*, vol. 181, no. 2, pp. 202–209, 2009.

- [57] Sugiura T, Kurosaka D, Uezuki Y, Eguchi S, Obata H, Takahashi T. "Creating cataract in a pig eye." *Journal of Cataract & Refractive Surgery*, vol. 25, no. 5, pp. 615–621, 1999.
- [58] Tournoy K, Bolly A, Aerts J, Pierard P, De Pauw R, Leduc D, Leloup A, Pieters T, Slabbynck H, Janssens A, Carron K, Schrevels L, Pat K, De Keukeleire T, Doms C. "The value of endoscopic ultrasound after bronchoscopy to diagnose thoracic sarcoidosis." *The European respiratory journal*, vol. 35, no. 6, pp. 1329–1235, 2010.
- [59] Dewan I, Rao B. "Wilcoxon-signed rank test for associated sequences." *Statistics & Probability Letters*, vol. 71, no. 2, pp. 131–142, 2005.
- [60] Spurrier J. "On the null distribution of the Kruskal–Wallis statistic." *Journal of Nonparametric Statistics*, vol. 15, no. 6, pp. 685–691, 2003.
- [61] Mather K. "R. A. Fisher's Statistical Methods for Research Workers : An Appreciation." *Journal of the American Statistical Association*, vol. 46, no. 253, pp. 51–54, 1951.
- [62] Rantanen N. *Diagnostic Ultrasound*, 1^a ed. Jaypee Brothers Publishers, p. 261, 1986.
- [63] Huda W, Slone R. *Radiologic Physics*, 2^a ed., vol. 231, no. 1. Lippincott Williams & Wilkins, pp. 64–64, 2002.
- [64] Culjat M, Goldenberg D, Tewari P, Singh R. "A review of tissue substitutes for ultrasound imaging." *Ultrasound in medicine & biology*, vol. 36, no. 6, pp. 861–873, 2010.
- [65] Azhari H. *Introduction, in Basics of Biomedical Ultrasound for Engineers*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc, 2010.
- [66] Haak A. "Evaluation of the accuracy and precision of ultrasound attenuation slope estimates." University of Illinois, 2010.
- [67] Cobbold R. *Foundations of Biomedical Ultrasound*, 1^a ed. Oxford University Press, p. 832, 2006.
- [68] Beaulieu N. "Maximum-likelihood based estimation of the Nakagami m parameter," *IEEE Communications Letters*, vol. 5, no. 3, pp. 101–103, 2001.
- [69] Kolář R, Jiřík R, Jan J. "Estimator Comparison of the Nakagami- m Parameter and Its Application in Echocardiography." *Radioengineering*, vol. 13, no. 1, pp. 8–12, 2004.
- [70] Shankar P. "Ultrasonic tissue characterization using a generalized Nakagami model." *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control*, vol. 48, no. 6, pp. 1716–1720, 2001.
- [71] Shankar P. "A general statistical model for ultrasonic backscattering from tissues." *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control*, vol. 47, no. 3, pp. 727–736, 2000.
- [72] Tsui P, Huang C, Zhou Q, Shung K. "Cataract measurement by estimating the ultrasonic statistical parameter using an ultrasound needle transducer: an in vitro study." *Physiological measurement*, vol. 32, no. 5, pp. 513–522, 2011.

Apêndice A - Ultrasound Techniques for Lens Hardness Characterization: A comparison Study

Danilo Jesus
Department of Physics
University of Coimbra
Coimbra, Portugal

Miguel Caixinha, Mário Santos, Jaime Santos
Department of Electrical and Computers Eng.
University of Coimbra, Portugal
jaime@deec.uc.pt

Abstract— Cataract affects more than 20 million people worldwide and is the leading cause of vision loss. Currently, the phacoemulsification is the most used procedure to extract cataract and recover visual acuity. Optimal phacoemulsification energy is demanded for safety cataract removal. It is well established that the energy value is determined by the cataract hardness. In this study twenty porcine eyes were used as experimental samples. Cataract was induced by an ethanol:2-propanol:formalin solution. A 25 MHz focused transducer has been used to estimate the ultrasound velocity and attenuation. Statistical analysis was performed to compare the different used methodologies and to correlate the different ultrasound parameters with different stages of cataract formation (lens hardness).

Keywords-ultrasounds; lens hardness; statistical analysis.

Introduction

A cataract is a clouding or opacity of the normally transparent crystalline lens of the eye. It affects more than 20 million people worldwide and it is the leading cause of vision loss. Generally, cataracts are a natural result of aging, but some eye injuries, medications and diseases like alcoholism and diabetes can also cause cataracts [1]. Currently, the phacoemulsification is the gold standard procedure to extract cataract and recover visual acuity. However, the use of an inadequate phacoemulsification energy can disrupt the posterior lens capsule, and among other complications, cause a significant loss of the corneal endothelial cells [2,3]. Thus, optimal phacoemulsification energy is demanded for safety cataract removal. It is well established that the energy value is determined by the cataract hardness. The current method used to classify the hardness degree is the LOCSIII, which consists in comparing the picture observed by slit lamp biomicroscopy (for nuclear cataract) or examined using retroillumination images (for cortical and posterior subcapsular cataract) with a set of standard photographs [4]. These manual grading systems have a high inter and intra-observers variability [5-7].

Non-invasive ultrasound techniques have increasingly been used as an alternative approach to assess the cataract hardness and provide information about its severity and type, due essentially to their non-invasive and non-ionizing nature [8]. Studies indicate the velocity and attenuation of ultrasound waves are correlated with the lens hardness degree. In this work several approaches for lens hardness estimation are presented based on ultrasound velocity and attenuation.

Methods and Materials

a. Ultrasound velocity

The ultrasound velocity (V) calculation is essentially based on two approaches. Measuring the time of flight (Δt) considering for that the anterior and posterior capsule echoes,

$$V = \frac{2d}{\Delta t} \quad (1)$$

where d is the lens thickness, or using the amplitude spectrum technique considering the front face and the first back face echo by,

$$V = 2d\Delta f \quad (2)$$

where Δf is the frequency variation between two maxima (minima) of the spectrum. In both equations the lens thickness d is measured by a caliper. Since the lens is a tissue some thickness inaccuracy is expected, which also affects the velocity results. An alternative method that does not require the previous knowledge of the lens thickness, can be used [8],

$$V = c \left(\frac{t_s - t_c}{t_b - t_a} + 1 \right) \quad (3)$$

where c is the ultrasound velocity in the solution, t_c and t_s are the propagation times for the path between the transducer and a reflector with and without the lens inserted, respectively, and t_a and t_b are the propagation times for the pulses travelling from the transducer to the front and back faces of the lens, respectively. Though independent of the lens thickness, this approach requires two additional acquisitions that are not practicable in-vivo.

b. Attenuation

The frequency dependent attenuation can be estimated based on three methodologies. Thus, using the front and back capsule echoes as shown in Fig. 1a the frequency dependent attenuation is expressed as

$$\alpha(f) = \frac{20}{2d} \log_{10} \left(\frac{A_1(f)}{A_2(f)} \frac{R_{12}}{R_{21}} T_{12} T_{21} \right), \quad (4)$$

where $A_1(f)$ and $A_2(f)$ are the amplitude spectra of the lens echoes, T_{12} and T_{21} are the transmission coefficients, and R_{12} and R_{21} are the reflection coefficients observed in the lens boundaries (see Fig. 1a). A second methodology makes use of a planar reflector as illustrated in Fig. 1b.

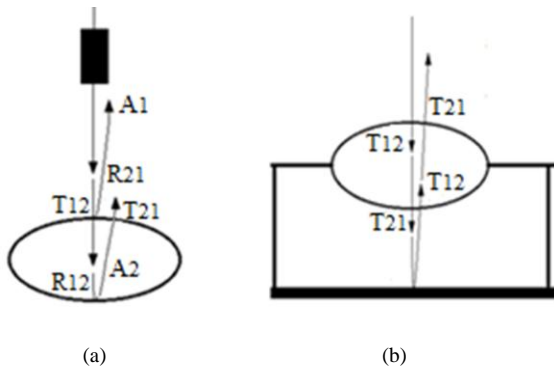


Figure 1. Experimental setup for the attenuation calculation: (a) for (4), (b) for (5).

The frequency dependent attenuation coefficient is given by

$$\alpha(f) = \frac{20}{2d} \log_{10} \left(\frac{A_3(f)}{A_4(f)} (T_{12} T_{21})^2 \right) - \alpha_s, \quad (5)$$

where $A_3(f)$ and $A_4(f)$ are the amplitude spectra from the echoes received from the reflector in the solution and the reflector with crystalline lens inserted, respectively, and α_s is the attenuation in the solution path corresponding the lens thickness. The transmission and reflection coefficients as well as the α_s factor are important attenuation correction parameters that in general are neglected in most evaluations [8]. A third methodology consists of analyzing the frequency downshift from the backscattering signal [10]. The expression for the attenuation coefficient (β) is given by,

$$\beta = \frac{\Delta f(z)}{\Delta z 4 \sigma^2} \quad (6)$$

where $\Delta f(z) / \Delta z$ is the slope estimated from a straight line fit to plot of the center frequency of backscattered echo at a certain depth z in tissue, and σ is the Gaussian bandwidth of the emission pulse.

c. Lens samples

Twenty porcine eyes were used as experimental samples. Cataract was induced by an ethanol:2-propanol:formalin solution at the ratio 3:3:4 [11]. The lens average diameter measured by a caliper was 8.3 ± 0.37 mm.

d. Experimental procedure

A 25 MHz transducer with a 3.5cm focus and 5mm active diameter was used. The lenses have been placed on a perspex holder having a circular hole suited to the lens (see Fig. 1). Both the transducer and the lens were immersed in a temperature controlled solution. The measurements were taken every 20 min ranging from 0 to 180 minutes (total cataract). A Pulser/Receiver with a 35 MHz bandwidth (PR5800, Olympus NDT Inc., Waltham, MA, USA) was used in a pulse echo configuration. The received signals were displayed by a digital oscilloscope (Tektronix TDS 3032) and transferred to the computer for processing.

e. Statistical Analysis

To compare the different methods used to compute the ultrasound velocity and the frequency dependent attenuation in lenses with and without induced cataract (i.e. with different lens hardness), several statistical analyses were performed (SPSS version 17.0, SPSS Inc, Chicago, IL, USA) [12]. To test the statistically significant differences on the two acoustical parameters, the non-parametric *Kruskal-Wallis* and *Wilcoxon* tests were used [13]. To analyze the agreement between the different methods for velocity and attenuation assessment, the *Intraclass Correlation Coefficient* (ICC) was used [14].

Results

Considering the time of flight approach, the ultrasound velocity ranged from 1617 ± 36 m/s in normal lenses and 1694 ± 31 m/s in cataractous lenses (i.e., after an immersion of 180 minutes). Considering the amplitude spectrum technique, the ultrasound velocity ranged from 1619 ± 39 m/s in normal lenses to 1692 ± 38 m/s in cataractous lenses. As expected the values are very similar because the methods are based in the same background theory. Considering the alternative method based on a reflector, the velocity of the ultrasound ranged from 1597 ± 37 m/s in normal lenses to 1670 ± 32 m/s in cataractous lenses. The time of flight and the amplitude spectrum approaches showed an excellent agreement (ICC=0.946, $p < 0.001$), justifying the obtained similar values, while the alternative method, although in agreement with the first two methods (ICC=0.824, $p < 0.001$ and ICC=0.745, $p < 0.001$, respectively), provides lower values for the ultrasound velocity in lenses. For the three methods a statistically significant increase in the ultrasound velocity with the immersion time (i.e. lens hardness) was found ($p < 0.001$). Fig. 2 illustrates the ultrasonic velocity behavior for the amplitude spectrum technique and the alternative method that makes use of a planar reflector.

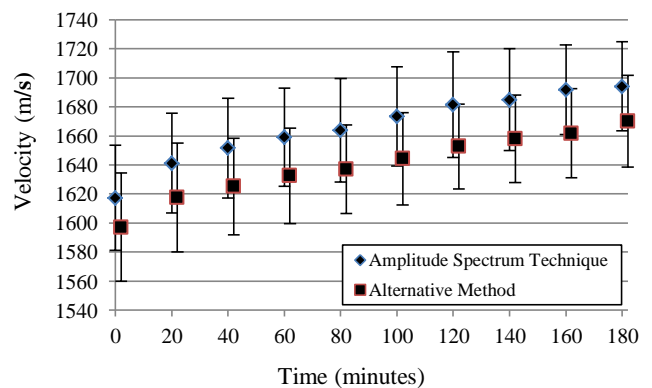


Figure 2. Ultrasound velocity for the lens characterized by the methods mentioned in the graph for immersion times ranging from 0 to 180 minutes.

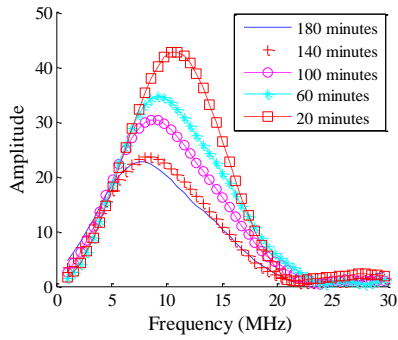


Figure 3. Signal spectra obtained using setup shown in fig. 1a.

Considering the evaluation of ultrasound frequency dependent attenuation based on the front and back capsule echoes and expressed by (4) (neglecting the coefficients of transmission and reflection), it was observed that the center frequency of the posterior capsule echo decreased 28% for the largest immersion time. Fig. 3 shows the evolution of the signal spectra for the different immersion times considered.

The second used methodology based on a planar reflector and expressed by (5), where the transmission effect and the attenuation in the solution path occupied by the lens were previously neglected, provided a decreasing of 17% in the center frequency for the larger immersion time (see Fig. 4).

For both methods the frequency dependent attenuation increases with the immersion time ($p < 0.001$), i.e., with the increase of the lens hardness. That behavior is illustrated in Fig. 5 where the attenuation is represented versus the considered immersion times for all lens. Thus, for lens without cataract the attenuation was 0.117 ± 0.02 dB/mmMHz and 0.111 ± 0.01 dB/mmMHz, and for cataractous lenses the attenuation was 0.212 ± 0.03 dB/mmMHz and 0.18 ± 0.02 dB/mmMHz, respectively for the first and second used attenuation methodologies. The two methods showed similar attenuation calculation performances for normal and cataractous lenses ($ICC = 0.717$ $p < 0.001$), over the times range. Notice that the attenuation assumes an almost constant value after an immersion time of 120 minutes, for both approaches.

The effect in the amplitude spectrum correction to account for loss of energy due to reflections/transmissions at the lens-solution boundaries, and the effect of the geometry of the setup considering the attenuation in the solution path occupied

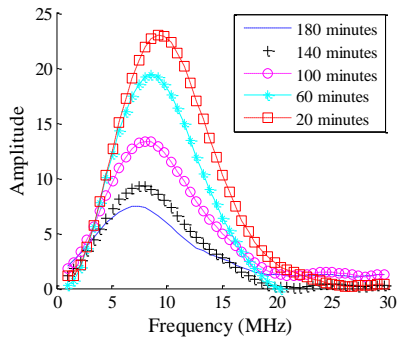


Figure 4. Signal spectra obtained using setup shown in fig. 1b.

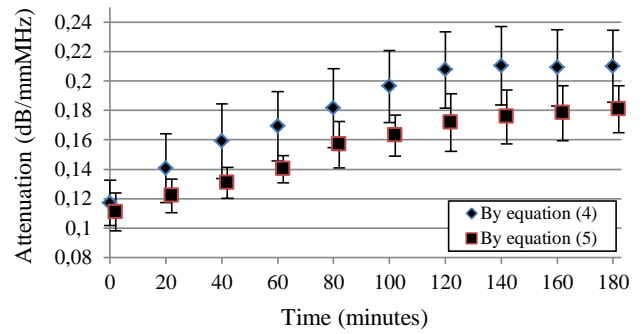


Figure 5. Frequency dependent attenuation for the used methodologies.

by the lens (see (4) and (5)), were also analyzed, leading to results showing small deviations in attenuation when compared to the simplified calculation. Thus, for the considered times those corrections produced lower attenuation values of 1.5% and 1% in average. From these results, it can be affirmed that the errors neglecting the corrections are meaningless.

The spectral-shift measurement approach was also used for calculating the attenuation coefficient. As the higher frequency signal components suffer increased attenuation the center frequency of the spectrum from the backscattering signal is shifted to a lower frequency with depth.

To compute the attenuation coefficient from the backscattered echoes, a tissue region was first selected with 3 mm in depth from the front lens, corresponding to the higher intensity region of backscattering. The segments of the backscattered signals were processed by using a Hanning window, which size was set to the length of incident pulse, with a 50% window overlap. Then, each segment was processed by Fourier transform to extract its spectrum, followed by a filtering using a Gaussian bandpass filter, which cutoff frequencies were set at 5 MHz and 25 MHz. The results for the center frequency against depth for the considered backscattering regions and for all lens immersed 180 minutes in the ethanol:2-propanol:formalin solution, are illustrated in Fig. 6. Also, the slope of the center frequency downshift versus depth for immersion times ranging from 20 to 180 minutes is shown in Fig. 7, which are used for the attenuation coefficient calculation, according to (6).

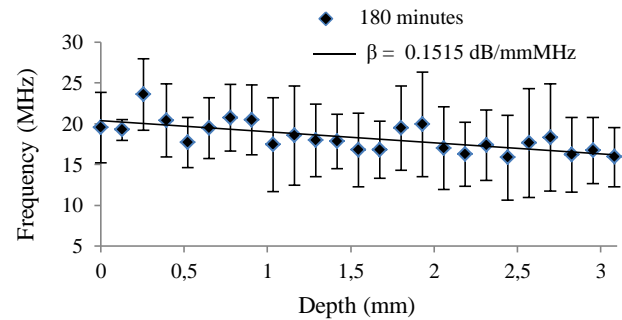


Figure 6. Center frequency downshift versus depth for all tested lens.

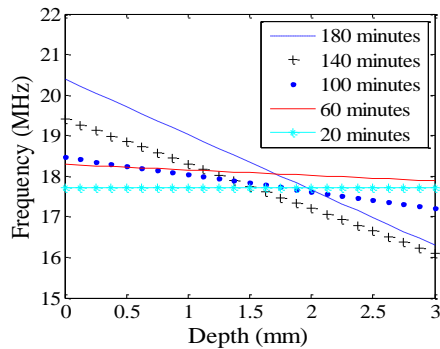


Figure 7. Slope of the center frequency downshift versus depth for all lens and times ranging from 20 to 180 minutes.

The attenuation coefficient versus the considered time range using the backscattering signals of all lenses and calculated for a sample length of 3 mm is depicted in Fig. 8. The attenuation coefficient varies from 0.0006 dB/mmMHz to 0.19 dB/mmMHz, for immersion times of 20 and 180 minutes, respectively. Note that the attenuation for the lenses without cataract is not mentioned in the graph due to the very low amplitude of the backscattering signals as expected.

Discussion and conclusions

The results of this study confirm that the velocity and the attenuation of the ultrasounds increases with the increase of the lens hardness ($p < 0.001$).

In our study the calculated velocities are in agreement with the values published by other authors, where velocities of 1639 m/s and 1735 m/s were found in normal and cataractous porcine lenses, respectively. The first two methodologies are conceptually identical, in the sense that the only difference between them is the processing domain, that is, one uses the time domain, while the other uses the frequency domain approach. The alternative method, although in agreement with the first two ones, provides lower velocities for lenses because it uses a different approach, i.e., a reference signal from a plan reflector. As an advantage, it does not require the previous thickness knowledge. However, it cannot be used *in vivo* measurements. Three methodologies have been used for attenuation. The first two showed a good agreement for the attenuation assessment in normal and cataractous lenses.

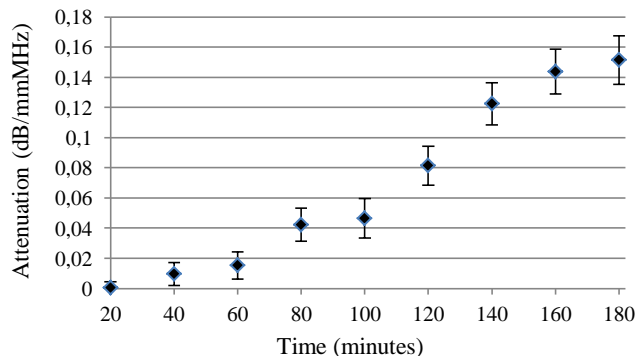


Figure 8. Attenuation coefficient versus immersion times.

Also, corrections to account for loss of energy due to reflections/transmissions at the lens-solution boundaries, and the effect of the geometry of the setup were also carried out for the two approaches. Those corrections produced lower attenuation values of 1.5% and 1% in average that can be relevant for the proposed goal since the selection of the best phacoemulsification energy will be based on the lens hardness, which in turn is correlated with the attenuation. The center frequency downshift measurement approach was also used, providing the attenuation coefficient calculation along the transducer beam in the lens. The regional attenuation coefficients in lenses (near the transducer) have been characterized by selecting a small size of sample volume along the propagation depth.

References

- J. J. Kanski, *Clinical diagnosis in ophthalmology*, 1st ed. Philadelphia: Elsevier Mosby, 2006.
- J. Clerk Maxwell, *A Treatise on Electricity and Magnetism*, 3rd ed., vol. 2. Oxford: Clarendon, 1892, pp.68–73.
- A. Tabatabaei et al., "Evaluation of Posterior Lens Capsule by 20-MHz Ultrasound Probe in Traumatic Cataract," *AJOPHT*, vol. 153, no. 1, pp. 51-54, 2012.
- K. Hayashi, M. Yoshida, S.-ichi Manabe, and A. Hirata, "Cataract surgery in eyes with low corneal endothelial cell density.," *Journal of cataract and refractive surgery*, vol. 37, no. 8, pp. 1419-1425, 2002.
- H. L. H. Li et al., "A computer-aided diagnosis system of nuclear cataract.," *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 57, no. 7, pp. 1690-1698, 2010.
- M. Esmaelpour Hajyar et al., "Three-Dimensional 1060-nm OCT: Choroidal Thickness Maps in Normal Subjects and Improved Posterior Segment Visualization in Cataract Patients," *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, vol. 51, no. 10, pp. 5260-5266, 2010.
- A. C. Tan, S. C. Loon, H. Choi, and L. Thean, "Lens Opacities Classification System III: cataract grading variability between junior and senior staff at a Singapore hospital.," *Journal of cataract and refractive surgery*, vol. 34, no. 11, pp. 1948-1952, 2008.
- D. R. Nixon, "Preoperative cataract grading by Scheimpflug imaging and effect on operative fluidics and phacoemulsification energy.," *Journal of cataract and refractive surgery*, vol. 36, no. 2, pp. 242-246, 2010.
- C.-C. Huang et al., "Evaluation of lens hardness in cataract surgery using high-frequency ultrasonic parameters in vitro.," *Ultrasound in medicine and biology*, vol. 33, no. 10, pp. 1609-1616, 2007.
- M. A. El-brawany, "Ultrasound-Based Noninvasive Measurement of Cataract Hardness," *The Online Journal on Electronics and Electrical Engineering*, vol. 2, no. 2, pp. 246-249, 2009.
- C.-C. Huang, R. Chen, P.-H. Tsui, Q. Zhou, M. S. Humayun, and K. K. Shung, "Measurements of attenuation coefficient for evaluating the hardness of a cataract lens by a high-frequency ultrasonic needle transducer.," *Physics in medicine and biology*, vol. 54, no. 19, pp. 5981-94, Oct. 2009.
- Sugiura T, Kurosaks D, Uezuki Y, Eguchi S, Obata H, Takahashi T. Creating cataract in pig eye. *J Cataract Refract Surg* 1999;25:615–621.
- K. G. Tournoy et al., "The value of endoscopic ultrasound after bronchoscopy to diagnose thoracic sarcoidosis.," *The European respiratory journal : official journal of the European Society for Clinical Respiratory Physiology*, vol. 35, no. 6, pp. 1329-35, Jun. 2010.
- J. D. Spurrier, "On the null distribution of the Kruskal–Wallis statistic.," *Journal of Nonparametric Statistics*, vol. 15, no. 6, pp. 685-691, Dec. 2003.
- K. Mather, "R. A. Fisher's Statistical Methods for Research Workers: An Appreciation," *Journal of the American Statistical Association*, vol. 46, no. 253, pp. 51-54, Mar. 1951.

Apêndice B - Fluxogramas

Neste apêndice são apresentados os fluxogramas de alguns algoritmos aplicados no âmbito da caracterização objetiva da catarata por ultrassons. O fluxograma apresentado na Figura B.1 descreve o cálculo da velocidade de propagação dos ultrassons considerando a diferença em frequência do eco face anterior e posterior do cristalino.

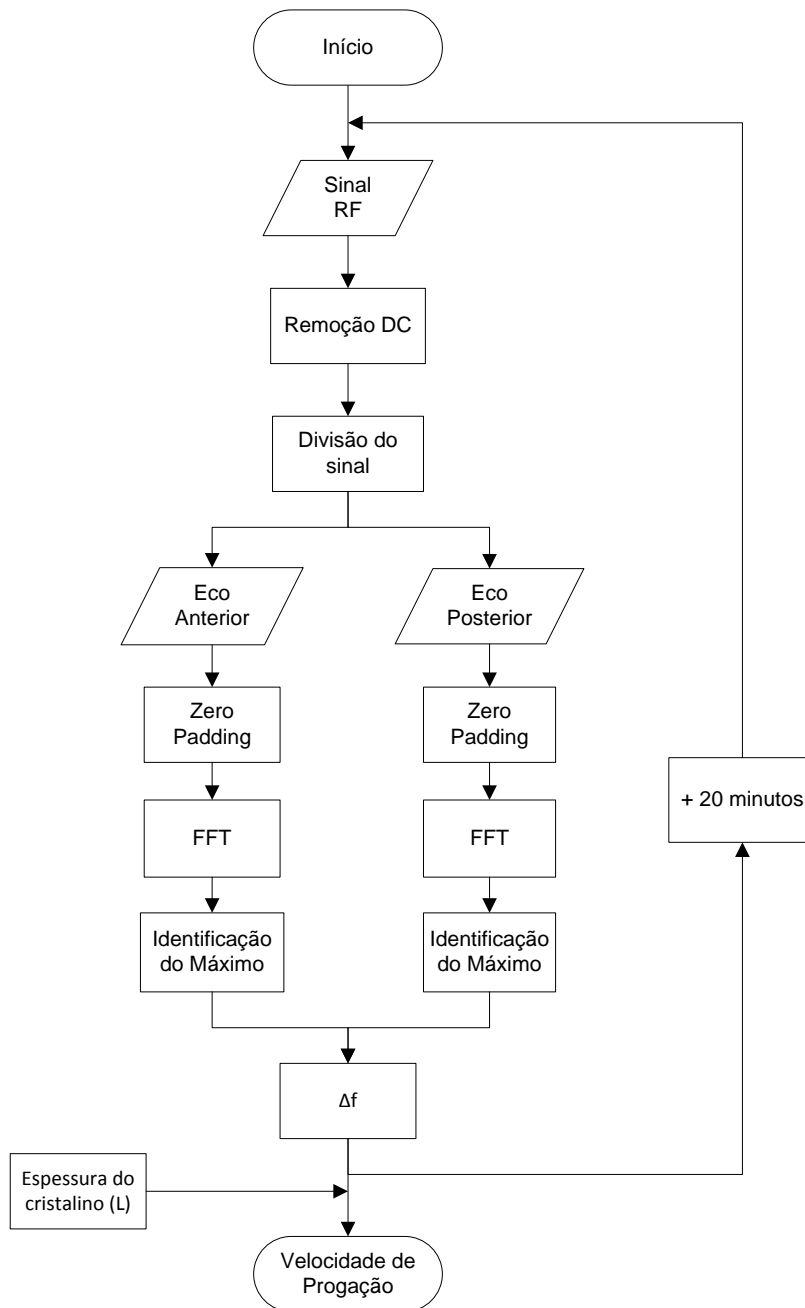


Figura B.1 – Fluxograma do procedimento efetuado para calcular a velocidade de propagação considerando a diferença em frequência.

O fluxograma que se segue, Figura B.2, apresenta o procedimento usado para obter a atenuação considerando o eco da face a anterior e o eco da face posterior.

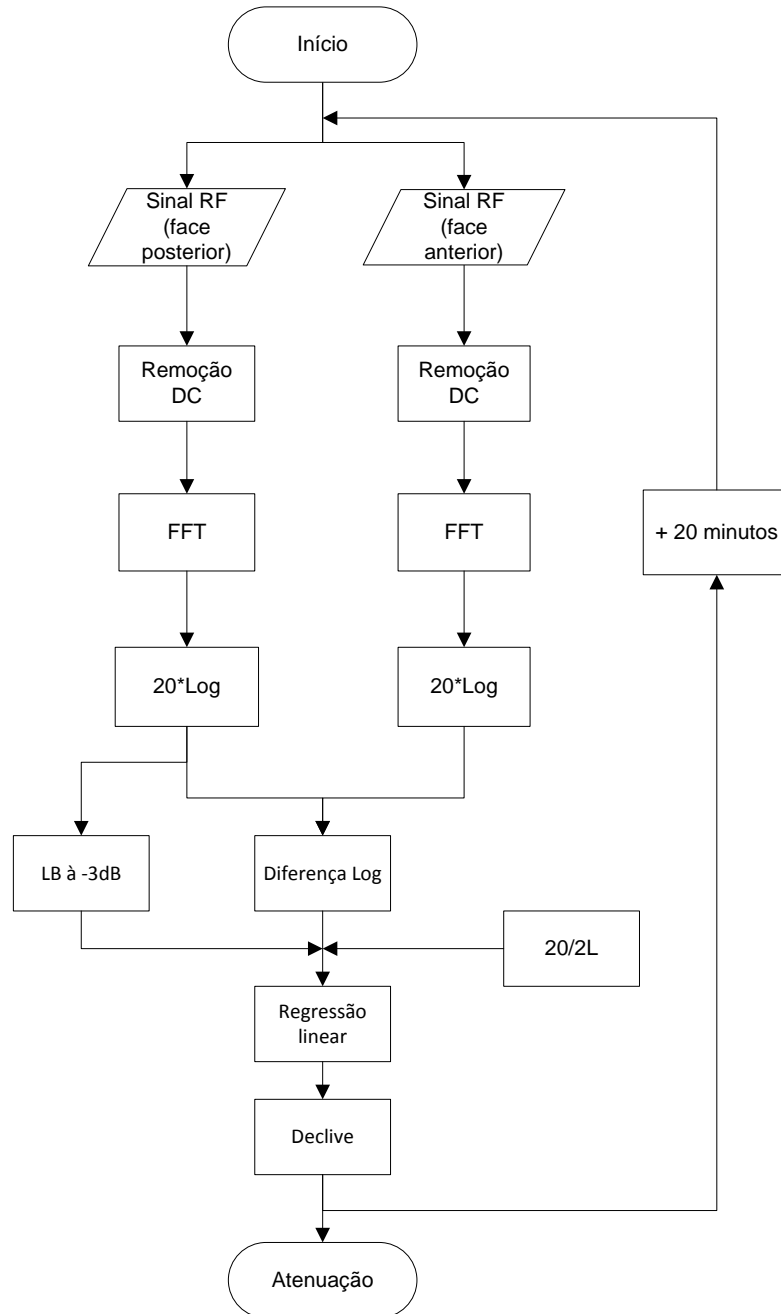


Figura B.2 – Fluxograma do procedimento efetuado para calcular atenuação através da face anterior e posterior do cristalino

O cálculo da atenuação com recurso a um refletor plano é apresentado no fluxograma da Figura B.3.

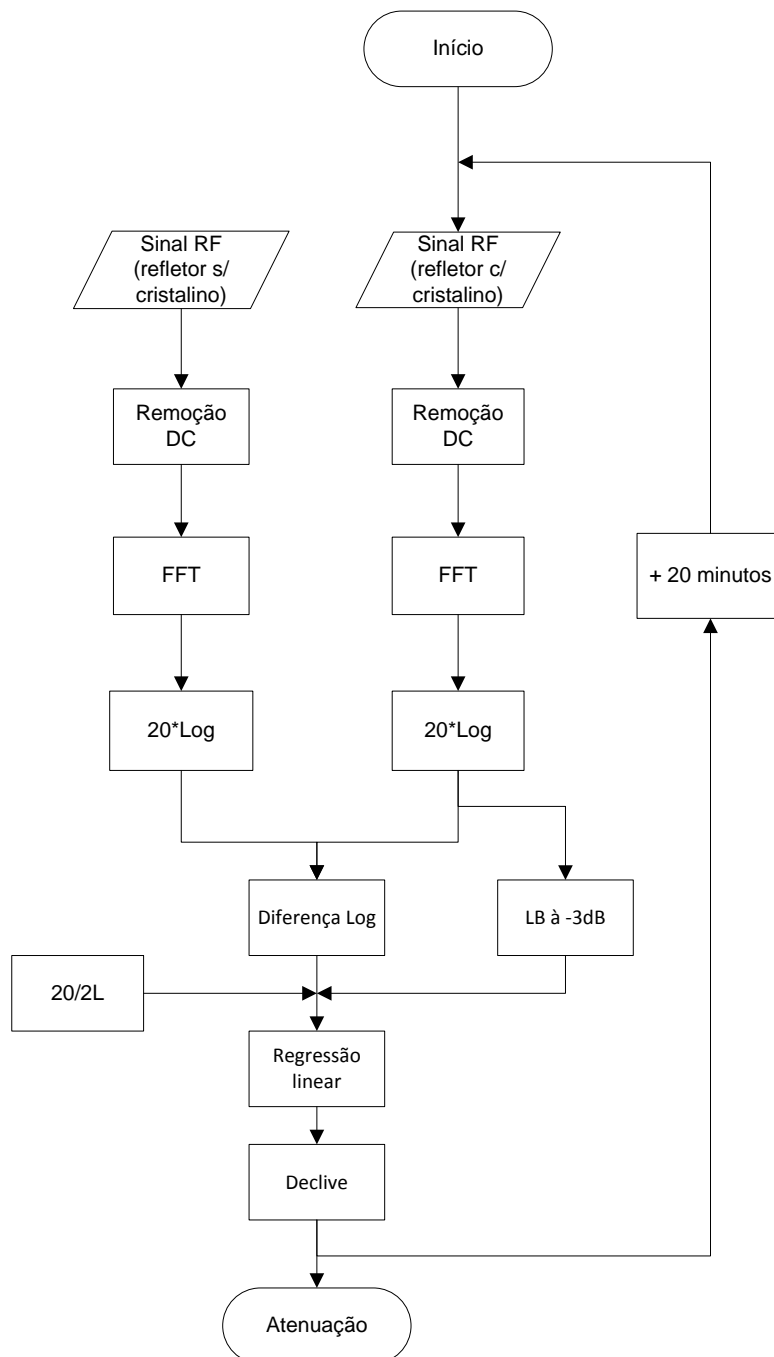


Figura B.3 – Fluxograma do procedimento efetuado para calcular a atenuação com recurso a um refletor plano.

No fluxograma da Figura B.4, é apresentado o cálculo da atenuação considerando o sinal de *backscattering*.

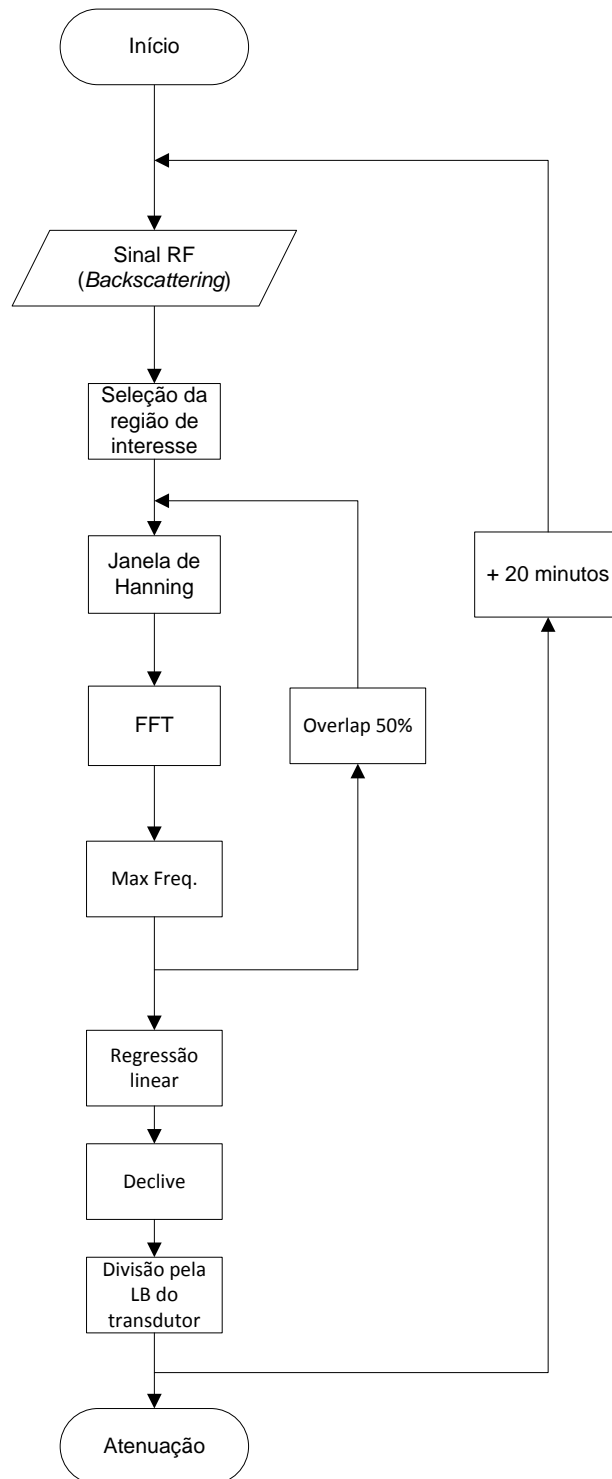


Figura B.4 – Fluxograma do procedimento efetuado para calcular a atenuação através do sinal proveniente de *backscattering*.

Por fim, no fluxograma apresentado na Figura B.5, está esquematizado o procedimento utilizado para calcular a distribuição de Nakagami do sinal proveniente de *backscattering*.

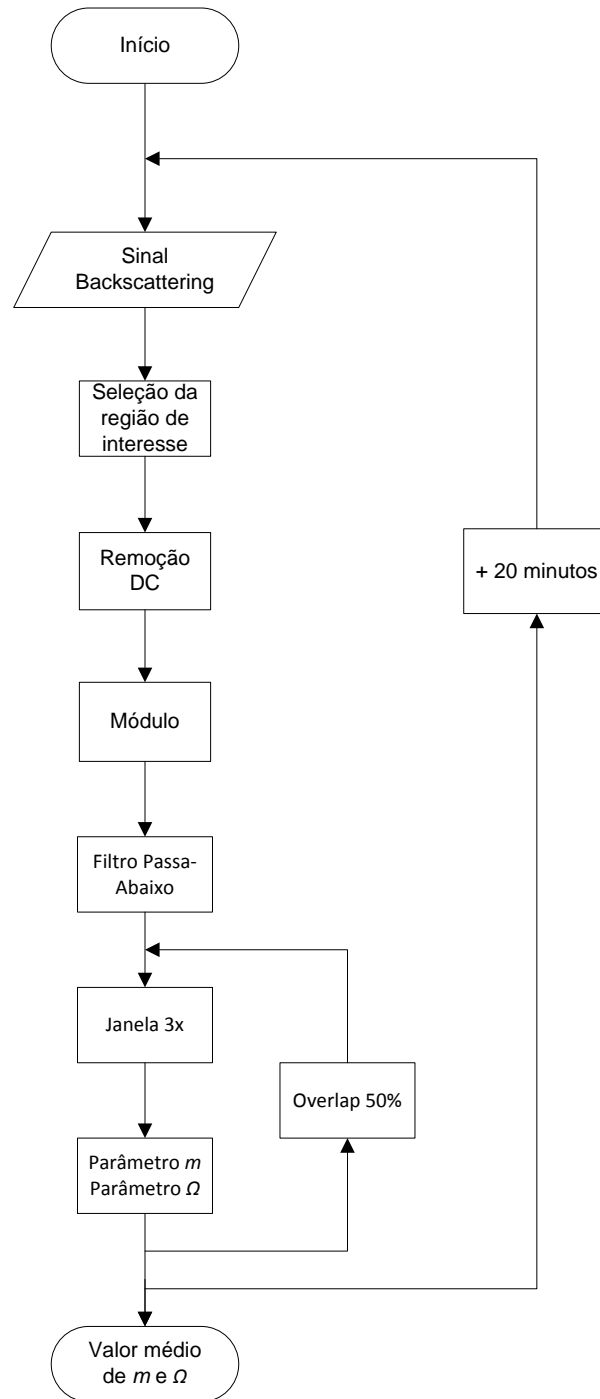


Figura B.5 – Fluxograma do procedimento efetuado para calcular os parâmetros da distribuição de Nakagami.

Apêndice C - Tabelas

Neste apêndice são apresentadas as tabelas referentes ao teste estatístico *Wilcoxon* entre os vários tempos de imersão. Na Tabela C.1 são apresentados os resultados considerando a velocidade de propagação e na Tabela C.2, os resultados tendo em conta a atenuação acústica.

Tabela C.1 - Valores de significância (*p-values*) obtidos através do teste de *Wilcoxon* entre os vários tempos de imersão considerando a velocidade de propagação.

Abordagem	Tempos de imersão								
	0-20	20-40	40-60	60-80	80-100	100-120	120-140	140-160	160-180
Análise no tempo	<0.001	0.001	0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.001	<0.001	0.013
Análise em frequência	<0.001	<0.001	<0.001	0.011	<0.001	0.005	0.001	<0.001	0.010
Uso de um refletor	<0.001	<0.001	<0.001	0.001	<0.001	<0.001	0.001	0.009	<0.001

Tabela C.2 – Valores de significância (*p-values*) obtidos através do teste de *Wilcoxon* entre os diferentes tempos de imersão considerando a atenuação.

Abordagem	Tempos de imersão								
	0-20	20-40	40-60	60-80	80-100	100-120	120-140	140-160	160-180
Cápsulas	<0.001	0.001	0.001	<0.001	<0.001	0.001	0.051	0.131	0.132
Refletor	<0.001	<0.001	<0.001	0.011	<0.001	0.005	0.071	0.127	0.183