



Universidade Federal De Uberlândia
Programa De Pós-Graduação Em Física
Instituto De Física

**Avanços na Monitoração da Saturação de Oxigênio em
Tecidos Biológicos e Vigilância do SARS-CoV-2:
Integração da Imagem no Domínio da Frequência Espacial
com Rede Neural Artificial**

Guilherme Henrique Sousa Alves

Uberlândia – MG

2024

**Avanços na Monitoração da Saturação de Oxigênio em
Tecidos Biológicos e Vigilância do SARS-CoV-2:
Integração da Imagem no Domínio da Frequência Espacial
com Rede Neural Artificial**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Física da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito para obtenção do Título de Doutor em Física.

Orientador: Prof. Dr. Adamo Ferreira Gomes do Monte

Coorientador: Prof. Dr. Diego Merigue da Cunha

Uberlândia – MG

2024

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

A474 2024	Alves, Guilherme Henrique Sousa, 1992- Avanços na Monitoração da Saturação de Oxigênio em Tecidos Biológicos e Vigilância do SARS-CoV-2 [recurso eletrônico] : Integração da Imagem no Domínio da Frequência Espacial com Rede Neural Artificial / Guilherme Henrique Sousa Alves. - 2024. Orientador: Adamo Ferreira Gomes do Monte. Coorientador: Diego Merigue da Cunha. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Física. Modo de acesso: Internet. Disponível em: http://doi.org/10.14393/ufu.te.2025.22 Inclui bibliografia. 1. Física. I. Monte, Adamo Ferreira Gomes do, 1972-, (Orient.). II. Cunha, Diego Merigue da, 1982-, (Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Física. IV. Título. CDU: 53
--------------	--

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Física				
Defesa de:	Defesa de Tese de Doutorado				
Data:	Doze de dezembro de 2024	Hora de início:	09:15	Hora de encerramento:	12:30
Matrícula do Discente:	12013FIS002				
Nome do Discente:	Guilherme Henrique Sousa Alves				
Título do Trabalho:	<i>Avanços na Monitoração da Saturação de Oxigênio em Tecidos Biológicos e Vigilância do SARS-CoV-2: Integração da Imagem no Domínio da Frequência Espacial com Rede Neural Artificial</i>				
Área de concentração:	Física				
Linha de pesquisa:	Síntese e desenvolvimento de materiais avançados				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	N.A				

Reuniu-se por meio de videoconferência, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Física, assim composta: Professores Doutores: Fabrício Macedo de Souza - INFIS/UFU, José de los Santos Guerra - INFIS/UFU, Guilherme Azevedo Alves - UFTM, Luismar Barbosa da Cruz Junior - USP e Adamo Ferreira Gomes do Monte - INFIS/UFU, orientador do discente.

Iniciando os trabalhos o presidente da mesa, Dr. Adamo Ferreira Gomes do Monte, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato, agradeceu a presença do público, e concedeu ao discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Adamo Ferreira Gomes do Monte, Professor(a) do Magistério Superior**, em 13/12/2024, às 17:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Guilherme Azevedo Alves, Usuário Externo**, em 13/12/2024, às 17:49, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luismar Barbosa da Cruz Junior, Usuário Externo**, em 13/12/2024, às 21:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Fabício Macedo de Souza, Professor(a) do Magistério Superior**, em 14/12/2024, às 05:03, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **José de los Santos Guerra, Professor(a) Substituto(a) do Magistério Superior**, em 14/12/2024, às 08:49, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **5935493** e o código CRC **29CAEFCF**.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha gratidão ao professor Adamo do Monte por ter me convidado a participar deste projeto, que foi uma oportunidade que enriqueceu minha formação acadêmica e científica. Também gostaria de agradecer ao professor Diego Merigue por aceitar ser meu coorientador, orientando-me com sabedoria e ajudando a definir claramente os objetivos deste trabalho. Agradeço ao Luismar da Cruz Junior pelo auxílio prestado na solução de dúvidas técnicas relacionadas ao funcionamento de alguns equipamentos do laboratório. Meus sinceros agradecimentos também vão para meus amigos Bruno Pinheiro e Vitor Silva, que me apoiaram na realização de alguns experimentos.

Além disso, agradeço à Universidade Federal de Uberlândia (UFU) e ao Programa de Pós-graduação em Física (PPFIS) pelo suporte acadêmico oferecido ao longo desta jornada. Por fim, sou grato à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro essencial para a realização deste trabalho.

RESUMO

A doença infecciosa coronavírus 2019 (COVID-19), causada pela Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS, do inglês *Severe Acute Respiratory Syndrome*) Coronavírus 2 (CoV-2), também conhecida como SARS-CoV-2, pode variar de assintomática a graves problemas respiratórios e falência múltipla de órgãos. A complexidade e rápida evolução da doença, muitas vezes sem sinais perceptíveis inicialmente, destacam a necessidade de monitoramento rigoroso e intervenção precoce. Dentre as possíveis abordagens, a visualização da oxigenação em grandes áreas de tecido pode melhorar significativamente o manejo dos pacientes em cuidados intensivos. A técnica de Imagem no Domínio da Frequência Espacial (SFDI, do inglês *Spatial Frequency Domain Imaging*) tem se mostrado promissora para a medição das propriedades ópticas de tecidos biológicos, oferecendo medições rápidas e precisas em grandes áreas, possibilitando esse tipo de monitoramento. Neste estudo, desenvolvemos uma técnica que combina SFDI com Rede Neural Artificial (RNA) para determinar concentrações de oxihemoglobina (Coxi), desoxihemoglobina (Cdeoxi) e saturação de oxigênio (SpO₂) em tecidos biológicos. Utilizando fantasmas ópticos feitos de matriz de polidimetilsiloxano (PDMS), dióxido de titânio (TiO₂) como agente espalhador, e tinta nanquim como agente absorvedor, avaliamos suas propriedades ópticas com as técnicas de *Inverse Adding-Doubling* (IAD) e SFDI para validar e calibrar o dispositivo óptico SFDI. Para a aplicação da técnica IAD, utilizamos uma esfera integradora acoplada a um espectrômetro para medir o espectro da luz transmitida e refletida difusamente. Imagens SFDI foram obtidas projetando padrões de luz bidimensionais com diferentes frequências espaciais na amostra e analisando os efeitos de espalhamento e absorção nos valores de refletância difusa (R_d) capturados por uma câmera. Usando um algoritmo em MATLAB, criamos mapas espaciais de absorção e espalhamento de luz na superfície das amostras. A utilização da RNA permitiu determinar diretamente as concentrações de oxi e desoxihemoglobina a partir das imagens SFDI, sem a necessidade de medir coeficientes de absorção em diferentes comprimentos de onda. O modelo apresentou correlações de 0,997 e 0,982 para as concentrações de oxi e desoxihemoglobina, respectivamente, com erros médios de 0,98% e 0,99%. Em um estudo *in vivo*, a técnica demonstrou viabilidade na obtenção de imagens funcionais da concentração de oxihemoglobina, desoxihemoglobina e saturação de oxigênio. A imagem de oxigenação ofereceu medições quantitativas em tecidos de formato irregular, sem contato direto e com resposta rápida. Embora promissora, a técnica enfrenta limitações, incluindo a necessidade de processamento posterior das imagens e a falta de medidas tridimensionais dos perfis do tecido, que limitam a precisão. Abordar essas limitações será crucial para adaptar a técnica a aplicações mais precisas e aumentar sua sensibilidade a diferentes condições experimentais.

Palavras-chave: COVID-19; Imagem no Domínio da Frequência Espacial; Fantasmas; Tecido biológico; Espalhamento de luz; Absorção de luz; Rede Neural Artificial, Saturação de oxigênio.

ABSTRACT

The infectious disease coronavirus 2019 (COVID-19), caused by Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) Coronavirus 2 (CoV-2), also known as SARS-CoV-2, can range from asymptomatic to severe respiratory problems and multiple organ failure. The complexity and rapid progression of the disease, often without noticeable signs, highlight the need for close monitoring and early intervention. Among the possible approaches, visualization of oxygenation in large tissue areas can significantly improve the management of patients in intensive care. The Spatial Frequency Domain Imaging (SFDI) technique has shown promise for measuring the optical properties of biological tissues, offering rapid and accurate measurements over large areas and enabling this type of monitoring. In this study, we developed a technique that combines SFDI with Artificial Neural Network (ANN) to determine oxyhemoglobin (C_{oxy}), deoxyhemoglobin (C_{deoxy}), and oxygen saturation (SpO_2) concentrations in biological tissues. Using optical phantoms made of polydimethylsiloxane (PDMS) matrix, titanium dioxide (TiO_2) as scattering agent, and India ink as absorbing agent, we evaluated their optical properties with the Inverse Adding-Doubling (IAD) and SFDI techniques to validate and calibrate the SFDI optical device. To apply the IAD technique, we used an integrating sphere coupled to a spectrometer to measure the spectrum of transmitted and diffusely reflected light. SFDI images were obtained by projecting two-dimensional light patterns with different spatial frequencies onto the sample and analyzing the effects of scattering and absorption on the diffuse reflectance (R_d) values captured by a camera. Using a MATLAB algorithm, we created spatial maps of light absorption and scattering on the surface of the samples. The use of ANN allowed us to directly determine the concentrations of oxyhemoglobin and deoxyhemoglobin from the SFDI images, without the need to measure absorption coefficients at different wavelengths. The model showed correlations of 0.997 and 0.982 for the concentrations of oxyhemoglobin and deoxyhemoglobin, respectively, with average errors of 0.98% and 0.99%. In an in vivo study, the technique demonstrated feasibility in obtaining functional images of the concentrations of oxyhemoglobin, deoxyhemoglobin, and oxygen saturation. Oxygenation imaging provided quantitative measurements in irregularly shaped tissues, without direct contact and with a fast response. Although promising, the technique faces limitations, including the need for post-processing of the images and the lack of three-dimensional measurements of the tissue profiles, which limit accuracy. Addressing these limitations will be crucial to adapt the technique to more precise applications and to increase its sensitivity to different experimental conditions.

Palavras-chave: COVID-19; Spatial Frequency Domain Imaging; Phantoms; Biological tissue; Light scattering; Light absorption; Artificial Neural Network, Oxygen saturation.

LISTA DE ABREVIATURAS

ACP	Análise de Componentes Principais
ATP	Trifosfato de adenosina
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CCD	Dispositivo de carga acoplada
CoV-2	Coronavírus 2
COVID-19	Coronavírus 2019
ctO ₂ Hb	Concentração tissular de oxihemoglobina
DMD	Dispositivo Digital de Microespelhos
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ECM	Matriz extracelular
FAD	Dinucleótido de flavina e adenina
FPS	Quadros por segundo
FT	Transformada de Fourier
FWHM	Largura total à meia altura
HAP	Hidroxiapatita
IAD	<i>Inverse adding-doubling</i>
IR	Infravermelho
IS	Esfera integradora
LSF	Função de Dispersão de Linha
LUT	Tabela de Consulta
MC	Monte Carlo
MFP	Caminho livre médio
MT	Transferência de Modulação
MTF	Função de Transferência de Modulação
NAD	Dinucleótido de nicotinamida e adenina oxidado
NADH	Dinucleótido de nicotinamida e adenina reduzido
NIR	Infravermelho próximo
OMS	Organização Mundial da Saúde
PDMS	Polidimetilsiloxano

PPFIS	Programa de Pós-graduação em Física
PSF	Função de Dispersão de Pontos
RNA	Rede Neural Artificial
ROIs	Regiões de interesse
RTE	Equação de Transferência Radiativa
RTT	Teoria de Transferência Radiativa
SARA	Síndrome da angústia respiratória aguda
SARS	Síndrome Respiratória Aguda Grave
SARS-CoV-2	Síndrome Respiratória Aguda Grave Coronavírus 2
SFD	Imagem no Domínio da Frequência
SFDI	Imagem no Domínio da Frequência Espacial
SNR	Relação sinal-ruído
TMFP	Caminho livre médio de transporte
UFU	Universidade Federal de Uberlândia
UV	Ultravioleta
VIS	Visível
wv	Comprimento de onda

LISTA DE SÍMBOLOS

[Hb]	Concentração de desoxihemoglobina
[HbO ₂]	Concentração de oxihemoglobina
A	Absorbância
a	Raio do objeto espalhador / Albedo
B	Largura de banda do sinal de entrada
BaSO ₄	Sulfato de bário
c	Velocidade da luz no vácuo
c _m	Velocidade da luz em outro meio de propagação
dσ _s /dΩ	Seção transversal de espalhamento diferencial
f _{Nyq}	Frequência de Nyquist
f _s	Frequência de amostragem
f _x	Frequência espacial da luz incidente
g	Fator anisotrópico
h	Constante de Planck
H ₂ O	Água
Hb	Desoxihemoglobina
HbO ₂	Oxihemoglobina
I ₀	Intensidade inicial da luz
I	Intensidade da luz
I _a	Caminho livre médio de absorção
I _{AC}	Intensidade da luz difusa refletida (componente espacialmente modulado)
I _{DC}	Intensidade da luz difusa refletida (componente planar)
I _s	Caminho livre médio de espalhamento
I _{tr}	Caminho livre médio de transporte
K _a	Taxa de absorção
M	Modulação

M_{AC}	Amplitude de modulação
M_{DC}	Amplitude de modulação planar
MgO	Óxido de
M_{im}	Modulação da imagem
M_{obj}	Modulação do objeto
n	Índice de refração
$p(\hat{s}, \hat{s}')$	Função de espalhamento (ou função de fase)
P	Potência
P_{esp}	Potência espalhada
P_{abs}	Potência absorvida
q	Fonte da luz
R	Reflexão
R_d	Refletância difusa
R_{ef}	Coeficiente de reflexão efetivo
$\hat{s}$	Direção de propagação da onda plana em relação ao objeto espalhador
SpO_2	Saturação de oxigênio
T	Transmissão/Transmitância
TiO_2	Dióxido de titânio
θ	Ângulo entre a direção da onda incidente e a direção da onda espalhada
λ	Comprimento de onda
μ_a	Coeficiente de absorção
μ_{ef}	Coeficiente de atenuação efetivo
μ_{ef}'	Coeficiente de atenuação escalar
μ_s	Coeficiente de espalhamento
μ_s'	Coeficiente de espalhamento reduzido
μ_t	Coeficiente de atenuação total

μ_{tr}	Coeficiente de transporte
ρ_a	Densidade numérica dos objetos absorvedores
ρ_s	Densidade numérica dos objetos espalhadores
σ_a	Seção transversal de absorção
σ_s	Seção transversal de espalhamento
τ	Espessura óptica
φ	Taxa de fluência

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática dos fenômenos de refração e reflexão na interface plana de dois meios homogêneos como índices de refração n_1 e n_2	28
Figura 2 - Representação esquemática do fenômeno de reflexão interna total na interface plana de dois meios homogêneos como índices de refração n_1 e n_2 . Ela ocorre quando o ângulo da luz incidente é maior que um ângulo crítico (θ_c) e o índice de refração do primeiro meio é maior que do segundo, ou seja, $n_2 < n_1$	29
Figura 3 – Representação esquemática da reflexão de Fresnel e refletância difusa na superfície irregular da pele humana.	30
Figura 4 - Representação esquemática da reflexão de Fresnel e refletância difusa na superfície irregular de um material opticamente não homogêneo. Além disso, o fenômeno de espalhamento também está representado.....	31
Figura 5 – Atenuação de um feixe de luz devido ao fenômeno de absorção, conforme especificado na lei de Beer-Lambert.	34
Figura 6 – Representação esquemática do espalhamento da luz incidente em uma partícula incorporada em um meio com índice de refração diferente dela. Na ilustração, n_1 é o índice de refração do meio e n_2 é o índice de refração da partícula.	35
Figura 7 – Representação esquemática da distribuição angular de espalhamento. .	37
Figura 8 - Distribuição do espalhamento Rayleigh da luz proveniente de uma onda plana em função do ângulo. $\theta = 0^\circ$ é a direção em que o feixe de luz é incidido. Esta representação é referente a uma luz incidente não polarizada. Adaptado de Vo-Dinh 2015.....	39
Figura 9 - Padrão angular do espalhamento da luz verde por uma esfera dielétrica de $0,5 \mu\text{m}$ de diâmetro. A linha sólida e a linha tracejada foram obtidas aplicando-se os componentes de polarização vertical e horizontal da luz, respectivamente. Adaptado de Grossweiner et al. 2005.	40
Figura 10 – Equivalência em executar 10 movimentos menores de caminho livre médio (MFP) de espalhamento ($1/\mu_s$) com ângulos de deflexão anisotrópicos e um grande movimento com um caminho livre médio de espalhamento reduzido ($1/\mu_s'$). As partículas espalhadoras são representadas pelos discos amarelos e as flechas vermelhas menores indicam as direções de propagação do fóton no meio, durante interações consecutivas de espalhamento. As flechas maiores representam a	

direção efetiva da migração dos fótons como resultado de múltiplos espalhamentos. Adaptado de Tuchin 2015a.	43
Figura 11 - Representação esquemática da estrutura biológica da pele humana, composta por três camadas principais: a epiderme, a derme e a hipoderme. Além das diferentes camadas que a compõe, ela também possui diversos componentes, como, por exemplo, folículos capilares, glândulas sudoríparas, gordura, vasos sanguíneos e tecido conjuntivo.	45
Figura 12 – Representação esquemática de diferentes formas de interação da luz com o tecido biológico.	47
Figura 13 – Espectro de absorção dos principais cromóforos nos tecidos biológicos, que são: água (H ₂ O), lipídios, oxihemoglobina (HbO ₂) e desoxihemoglobina (Hb). Este espectro está na região entre o visível (aproximadamente entre 400 e 700 nm) e o infravermelho próximo (aproximadamente entre 700 e 2500 nm). Adaptado de Tuchin 2015a.	48
Figura 14 - Espectro de absorção da água (H ₂ O) e lipídios na região do infravermelho próximo. Adaptado de Tuchin 2015a.	49
Figura 15 - Espectro de absorção da água (H ₂ O) na região entre o ultravioleta (aproximadamente entre 0,1 e 0,4 μm), visível (VIS) e infravermelho (aproximadamente entre 0,7 e 1000 μm). Adaptado de Tuchin 2015a.	49
Figura 16 - Principais cromóforos, juntamente com suas respectivas regiões espectrais de absorção, encontrados nos tecidos que compõe a pele humana. Dentre estes, FAD é a sigla para dinucleótido de flavina e adenina (do inglês flavin adenine dinucleotide), NADH é a sigla para dinucleótido de nicotinamida e adenina reduzido (do inglês nicotinamide adenine dinucleotide, no qual, H representa a forma reduzida), NAD é a sigla para dinucleótido de nicotinamida e adenina oxidado, ATP é a sigla para trifosfato de adenosina (do inglês adenosine triphosphate) e DNA é a sigla para ácido desoxirribonucleico (do inglês deoxyribonucleic acid). Adaptado de Tuchin 2015a.	50
Figura 17 – Tipos de espalhamento de luz e dimensões de algumas estruturas e componentes de tecidos biológicos. Adaptado de Tuchin 2015a.	52
Figura 18 - Ilustrações de fantasmas de tecido: (A) fantoma líquido, (B) fantoma sólido e (C) fantoma em gel. Adaptado de Vardaki e Kourkouvelis 2020.	54
Figura 19 - Concentrações típicas de agentes espalhadores e absorvedores frequentemente utilizados na fabricação de fantasmas de tecido, em comparação com	

as propriedades ópticas de tecidos humanos reais, analisados no comprimento de onda de 830 nm. Adaptado de Vardaki e Kourkoulis 2020.	56
Figura 20 – a) Os tons apresentados na imagem do objeto podem ser descritos por uma função seno, como demonstrado em b). É importante destacar que, ao contrário do que a figura ilustra, devemos assumir que os tons são distribuídos continuamente e não possuem fronteiras definidas. Adaptado de Ahmed 2015.	59
Figura 21 – a) Amostragem de uma imagem com frequência de Nyquist igual a $2/d$ e um arranjo de detectores com frequência espacial de amostragem igual a $1/d$ (neste caso, $f_s < f_{Nyq}$). b) Como os dados adquiridos possuem todos o mesmo contraste, a imagem reconstruída possui um único ton. Ou seja, a imagem reconstruída possui informação que não estava presente da imagem original. Adaptado de Ahmed 2015.	60
Figura 22 – a) Amostragem de uma imagem com frequência de Nyquist igual a $2/d$ e um arranjo de detectores com frequência espacial de amostragem igual a $2/d$ (neste caso, $f_s = f_{Nyq}$). b) Como os dados adquiridos possuem contrastes diferentes, a imagem reconstruída é idêntica a imagem original e não possui borrões causados por aliasing. Adaptado de Ahmed 2015.	61
Figura 23 – a) Representação esquemática da imagem de um ponto, feita por um detector de pixels. Adaptado de Ahmed 2015.	62
Figura 24 – Relação entre intensidade da luz em e a distância radial de dois pontos proximalmente espaçados. Como a distância entre os dois pontos é igual a FWHM, o sistema de detecção é capaz de distinguir entre cada um deles. Com isso, a PSF pode ser utilizada para quantificar a resolução espacial de um detector de imagem. Adaptado de Ahmed 2015.	63
Figura 25 - Representação esquemática da imagem formada por uma linha fina. A LSF da linha pode ser entendida como um grande número de PSFs de pontos proximalmente espaçados. Adaptado de Ahmed 2015.	64
Figura 26 - A variação espacial do contraste de uma imagem pode ser representada por uma função seno. Na figura, A_{max} representa a amplitude máxima do sinal obtido no detector e A_{min} a amplitude mínima. Entre estes gráficos, a) possui um contraste alto e b) possui um contraste baixo. Adaptado de Boreman 2021.	65
Figura 27 - Diminuição (ou atenuação) da modulação da imagem, em relação ao que era apresentado na distribuição do objeto original. Adaptado de Boreman 2021.	66

Figura 28 – A MTF representa o declínio da modulação em relação ao aumento da frequência espacial. Neste caso, a modulação do objeto é constante e a modulação da imagem varia de acordo com a frequência espacial. Adaptado de Boreman 2021.

.....67

Figura 29 - Representação gráfica dos quatro domínios de medição para a caracterização de meios túrbidos. FT representa a transformada de Fourier da função. Adaptado de Cuccia et al. 2009.....68

Figura 30 – Representação esquemática de uma iluminação com padrão sinusoidal (q) incidido perpendicularmente à superfície de uma amostra túrbida. Esse padrão de iluminação gera uma taxa de fluência (ϕ) com a mesma frequência (f_x) e fase (α) da luz incidida. Adaptado de Cuccia et al. 2009.....70

Figura 31 - Imagens da refletância difusa obtidas utilizando o dispositivo óptico SFDI, projetado e montado na UFU, em um fantoma de tecido. Neste caso, os padrões de iluminação sinusoidal possuem diferentes frequências espaciais (f_x), que são: a) 0 mm^{-1} ; b) $0,1 \text{ mm}^{-1}$ e c) $0,4 \text{ mm}^{-1}$. Na figura é possível observar que, conforme a frequência espacial da luz incidente na amostra aumenta, a atenuação da luz também aumenta. Ou seja, menos luz é refletida de forma difusa. 72

Figura 32 - Fluxograma representando os passos verticais para a construção de um modelo a partir de dados conhecidos (processo de aprendizagem) e os passos horizontais para testar o modelo utilizando dados reais (inferência). Adaptado de Kim 2017.....74

Figura 33 - Ilustração de um problema de classificação em que o objetivo é criar um modelo capaz de separar os dados (círculos e triângulos) em dois grupos distintos. Na figura, a) representa um modelo generalizado que incorpora ruídos, enquanto a figura b) ilustra um modelo sobreajustado com capacidade de generalização reduzida. Adaptado de Kim 2017. 76

Figura 34 - Fluxograma representando a relação entre o aprendizado de máquina e a rede neural, no qual a rede neural é o modelo a ser construído. Além disso, são representados os passos verticais para a construção da rede neural a partir de dados de treinamento e os passos horizontais para testar a rede neural utilizando dados de entrada. Adaptado de Kim 2017. 81

Figura 35 - Representação esquemática de um neurônio artificial recebendo n sinais de entrada provenientes do ambiente externo. Esses sinais são representados pelo conjunto $\{x_1, x_2, x_3, \dots, x_n\}$, a esquerda. O conjunto $\{w_1, w_2, w_3, \dots, w_n\}$ representa as

ponderações atribuídas às conexões sinápticas da rede no neurônio artificial. O valor de saída, indicado por u , é obtido por meio da soma ponderada dos valores de entrada, representada pela função de agregação linear (Σ) menos o limiar de ativação, ou viés, (θ). A função de ativação (g) é responsável por restringir a saída do neurônio a uma faixa adequada de valores. O sinal de saída (y) representa o valor final produzido pelo neurônio.....84

Figura 36 - Representação esquemática da arquitetura de uma rede neural artificial composta pela camada de entrada, as camadas ocultas e a camada de saída. Cada esfera representa um neurônio artificial diferente.....85

Figura 37 - Representação esquemática de um neurônio artificial recebendo n sinais de entrada provenientes do ambiente externo. Nessa representação, o neurônio (j) está associado a uma das camadas (L) de uma rede neural artificial e $g(.)$ representa uma função de ativação. 89

Figura 38 - Representação esquemática da arquitetura de uma rede neural artificial composta pela camada de entrada, as camadas ocultas e a camada de saída. Na figura, $W_{ji}^{(L)}$ refere-se a matrizes de pesos; $I_j^{(L)}$ corresponde a vetores que contêm os valores de entrada ponderados e relacionados ao neurônio j da camada L ; e $Y_j^{(L)}$ representa a saída do neurônio j da camada (L).**Erro! Indicador não definido.**

Figura 39 – Representação esquemática dos moldes utilizados para armazenar a suspensão durante o processo de cura. a) O molde maior tem dimensões de 3,75 cm de raio x 6,00 cm de altura e b) o molde menor tem dimensões de 3,50 cm x 2,80 cm x 0,30 cm.....96

Figura 40 - Representações esquemáticas das principais geometrias de posicionamento de amostras para medição espectral utilizando uma esfera integradora. a) representa uma medida de transmitância total em uma amostra in vitro; b) representa uma medida de refletância difusa em uma amostra in vitro; e c) representa uma medida de refletância difusa em uma amostra in vivo. Adaptado de Tuchin 2015a. 98

Figura 41 – Configurações básicas de um sistema contendo uma esfera integradora para medição das propriedades ópticas de fantasmas. Na figura, a) representa a configuração para medição de refletância difusa e b) representa a configuração para medição de transmitância total. Além disso, estão representados os principais componentes do sistema, que são: 1) a fonte de luz; 2) o detector; 3) a tela de corte;

4) a porta onde a amostra é posicionada; 5) a amostra; e 6) a porta plugada (fechada). Adaptado de Listewnik et al. 2021.....	100
Figura 42 – Representação esquemática do processo de geração de SFDIs. Durante o processo, um padrão de luz espacialmente modulado é projetado na amostra e a imagem de refletância difusa é capturada por uma câmera digital. Devido a efeitos de espalhamento e absorção múltiplos, a amplitude de modulação do padrão incidido é atenuado. A variação da amplitude de modulação é medida durante o processo de demodulação e a contribuição do sistema (MTF_{sis}) e de outros ruídos referentes à atenuação são corrigidos durante o processo de calibração. O processo é repetido para diferentes frequências espaciais e as propriedades ópticas são obtidas utilizando um modelo de propagação da luz. Adaptado de Gioux, Mazhar e Cuccia 2019.....	104
Figura 43 – Representação esquemática do método de demodulação de pixel individual. Este método utiliza vários quadros de dados adquiridos sequencialmente para extrair a M_{ac} . Adaptado de Gioux, Mazhar e Cuccia 2019.	105
Figura 44 - a) Representação esquemática do aparato experimental. b) Fotografia do aparato utilizado para a realização das SFDIs. Ele consiste em uma fonte de luz, um projetor, uma câmera CCD de 1280 x 1024 pixels e uma base giratória composta por cinco filtros ópticos.....	108
Figura 45 – Representação esquemática de uma LUT utilizada para determinação dos parâmetros μ_a e μ_s' na técnica SFDI. Nessa representação foram utilizadas duas frequências espaciais, $f_x = 0 \text{ mm}^{-1}$ e $f_x = 0,5 \text{ mm}^{-1}$. Os contornos vermelhos representam valores constantes de diferentes coeficientes de absorção (μ_a) e os contornos pretos os de espalhamento reduzido (μ_s'). As linhas pontilhadas, verticalmente e horizontalmente, indicam como o método LUT é utilizado para obter os parâmetros ópticos (μ_a e μ_s') por meio das refletâncias difusas. Adaptado de Cuccia et al. 2009.	110
Figura 46 - Espectro de absorção da oxihemoglobina (HbO_2) e desoxihemoglobina (Hb). Este espectro está na região entre o visível e o infravermelho próximo. Adaptado de Al-Naji et al. 2021.....	114
Figura 47 - Gráfico de superfície dos valores de R_d na frequência espacial de $0,1 \text{ mm}^{-1}$ em função de μ_a e μ_s' . Fonte: (GONÇALVES et al., 2024).	117
Figura 48 - Representação esquemática da rede neural artificial utilizada no estudo. Os primeiros e segundos componentes principais da Análise de Componentes	

Principais (ACP) são utilizados como valores de entrada na rede e os valores de saída são as concentrações de HbO ₂ e Hb (C _{oxi} e C _{deoxi} , respectivamente).	118
Figura 49 – a) Fotografia da vista superior dos sete fantasmas produzidos em formato cilíndrico, com raio de 3,25 cm e altura de 1,50 cm. b) gráfico de colunas representando as concentrações de tinta nanquim (em azul) e TiO ₂ (em vermelho) em relação à massa de PDMS utilizada nos fantasmas.....	123
Figura 50 - (a) Espectros do coeficiente de absorção e (b) espectros do coeficiente de espalhamento reduzido dos sete fantasmas com concentrações variadas de tinta nanquim e TiO ₂ , na faixa de comprimentos de onda entre 500 e 700 nm.	124
Figura 51 – Gráficos dos coeficientes de absorção e espalhamento reduzido dos fantasmas em função das concentrações dos agentes absorvedor e espalhador. Todos os coeficientes foram medidos no comprimento de onda de 650 nm. a) Coeficiente de absorção em relação à concentração de tinta nanquim. A concentração de TiO ₂ foi mantida constante em 0,375x10 ⁻³ % (em termos de m/m para TiO ₂ /PDMS). b) Coeficiente de espalhamento reduzido em relação à concentração de tinta nanquim. A concentração de TiO ₂ foi mantida constante em 0,375x10 ⁻³ % (em termos de m/m para TiO ₂ /PDMS). c) Coeficiente de espalhamento reduzido em relação à concentração de TiO ₂ . A concentração de tinta nanquim foi mantida constante em 1,500 µl/g (em termos de V/m para tinta nanquim/PDMS)..	128
Figura 52 - Mapas de falsas cores dos coeficientes de absorção e espalhamento reduzido, obtidos nos comprimentos de onda de 532 e 650 nm, abrangendo praticamente toda a superfície do fantoma G.....	129
Figura 53 - Histogramas contendo os valores médios dos coeficientes de absorção e espalhamento reduzido, assim como os seus valores máximos, mínimos e desvio padrão, obtidos por meio dos mapas de falsas cores do fantoma G, medidos nos comprimentos de onda de 532 e 650 nm.	130
Figura 54 - Mapas em falsas cores dos coeficientes de absorção e espalhamento reduzido, adquiridos no comprimento de onda de 532 nm, relativos aos fantasmas A, B, C, D, E e F. Na coluna esquerda, são exibidos os mapas de absorção, enquanto na coluna direita são apresentados os mapas de espalhamento reduzido correspondentes a cada fantoma.	132
Figura 55 – Gráficos dos coeficientes de absorção e espalhamento reduzido dos fantasmas em função das concentrações dos agentes absorvedor e espalhador. Todos os coeficientes foram medidos no comprimento de onda de 532 nm. a)	

Coeficiente de absorção em relação à concentração de tinta nanquim. A concentração de TiO_2 foi mantida constante em $0,375 \times 10^{-3}\%$ (em termos de m/m para TiO_2/PDMS). b) Coeficiente de espalhamento reduzido em relação à concentração de tinta nanquim. A concentração de TiO_2 foi mantida constante em $0,375 \times 10^{-3}\%$ (em termos de m/m para TiO_2/PDMS). c) Coeficiente de espalhamento reduzido em relação à concentração de TiO_2 . A concentração de tinta nanquim foi mantida constante em $1,500 \mu\text{l/g}$ (em termos de V/m para tinta nanquim/PDMS)..	133
Figura 56 – Mapas refletância difusa e de falsas cores dos coeficientes de absorção e espalhamento reduzido, obtidos nos comprimentos de onda de 532 e 650 nm, da região dorsal da mão de um voluntário.	135
Figura 57 - Histogramas contendo os valores médios dos coeficientes de absorção e espalhamento reduzido, assim como os seus valores máximos, mínimos e desvio padrão, obtidos por meio dos mapas de falsas cores do dorso da mão de um voluntário.	137
Figura 58 - Valores previstos das concentrações de a) C_{oxi} e b) C_{deoxi} , plotados em relação aos valores esperados. Estes valores foram obtidos a partir da aplicação do modelo treinado da rede neural artificial aos dados de teste. Tanto em a) quanto em b), a linha sólida vermelha representa os valores esperados e os pontos pretos representam os valores previstos.....	139
Figura 59 - Distribuição dos erros percentuais relativos observados nas previsões de a) C_{oxi} e b) C_{deoxi} , respectivamente.	140
Figura 60 - a) Mapas de falsas cores das concentrações de oxihemoglobina (C_{oxi}), desoxihemoglobina (C_{deoxi}) e a saturação de oxigênio (SpO_2) da região dorsal da mão do voluntário. b). Histogramas contendo os valores médios, máximos, mínimos e desvio padrão das concentrações dos cromóforos e da SpO_2 , obtidos por meio dos mapas de falsas cores.	144

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	23
2 OBJETIVOS	26
2.1 OBJETIVO GERAL	26
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	27
3.1 REFRAÇÃO	27
3.1.1 Índice de refração	27
3.1.2 Refração e reflexão na interface entre dois meios	28
3.1.3 Refletância difusa e transmissão da luz	30
3.2 ABSORÇÃO DA LUZ.....	31
3.2.1 Processos de absorção.....	31
3.2.2 Seção transversal de absorção e coeficiente de absorção	32
3.3 ESPALHAMENTO DA LUZ.....	34
3.3.1 Espalhamento em uma partícula localizada	34
3.3.2 Espalhamento Rayleigh	38
3.3.3 Espalhamento Mie	40
3.3.4 Regime da difusão.....	41
3.4 TECIDOS BIOLÓGICOS	43
3.4.1 Classificação geral dos tecidos biológicos	43
3.4.2 Composição e estrutura da pele humana	44
3.4.3 Propriedades óticas dos tecidos biológicos	46
3.4.4 Espectro de absorção e agentes absorvedores de luz no tecido biológico	48
3.4.5 Espalhamento de luz no tecido biológico.....	51
3.5 FANTOMAS ÓPTICOS.....	53
3.5.1 Introdução à fantasmas ópticos	53
3.5.2 Produção de fantasmas	54
3.6 IMAGEM NO DOMÍNIO DA FREQUÊNCIA ESPACIAL	57
3.6.1 Resolução espacial	57
3.6.2 Função de Dispersão de Pontos	61
3.6.3 Função de Transferência de Modulação	64
3.6.4 Introdução à Imagem no Domínio da Frequência Espacial	67

3.6.5 Aproximação da Difusão	69
3.7 REDES NEURAIS ARTIFICIAIS.....	72
3.7.1 Aprendizado de máquina	72
3.7.2 Desafios no uso do aprendizado de máquina	74
3.7.3 Sobreajuste	75
3.7.4 Regularização e validação em aprendizado de máquina	76
3.7.5 Tipos de aprendizado de máquina	78
3.7.6 Classificação e regressão	80
3.7.7 Rede neural	81
3.7.8 Camadas de uma rede neural artificial	84
3.7.9 Redes <i>feedforward</i> multicamadas	86
3.7.10 Processo de treinamento de uma rede perceptron multicamadas ...	87
3.7.11 Funcionamento do algoritmo de retropropagação.....	88
3.7.11 Ajuste dos pesos sinápticos.....	91
4 MATERIAIS E METODOLOGIA	94
4.1 FANTOMAS	94
4.1.1 Seleção dos materiais para a fabricação dos fantasmas	94
4.1.2 Metodologia utilizada para a confecção dos fantasmas.....	94
4.2 ESFERA INTEGRADORA.....	96
4.2.1 Introdução à esfera integradora	96
4.2.2 Técnica IAD para obtenção dos parâmetros ópticos	100
4.3 IMAGEM NO DOMÍNIO DA FREQUÊNCIA ESPACIAL (SFDI).....	102
4.3.1 Geração de SFDIs	102
4.3.3 Demodulação	104
4.3.4 Calibração	106
4.3.2 Aparato experimental do sistema SFDI.....	107
4.3.5 Determinação dos parâmetros ópticos	108
4.4 MODELO PARA SIMULAÇÃO ÓPTICA DO TECIDO DA PELE	110
4.4.1 Simulação de parâmetros ópticos do tecido da pele	110
4.4.2 Princípios para medição da saturação de oxigênio no sangue	111
4.5 PRÉ-PROCESSAMENTO DOS DADOS PARA O TREINAMENTO DA REDE NEURAL ARTIFICIAL	114
4.5.1 Criação de um banco de dados de refletância difusa	114
4.5.2 Pré-processamento dos dados.....	117

4.5.3 Treinamento e teste da rede neural artificial	118
4.6 ESTUDO <i>IN VIVO</i>	119
4.6 OBSERVAÇÕES	119
5 DISCUSSÕES	121
5.1 FANTOMAS DE SILICONE.....	121
5.2 MEDIDAS REALIZADAS NA ESFERA INTEGRADORA.....	123
5.3 MAPAS DE ABSORÇÃO E ESPALHAMENTO REDUZIDO DOS FANTOMAS	129
5.3 MAPAS DE ABSORÇÃO E ESPALHAMENTO REDUZIDO <i>IN VIVO</i>	134
5.4 APLICAÇÃO DA RNA AOS DADOS DE TESTE PARA ESTIMAR A CONCENTRAÇÃO DOS CROMÓFOROS	138
5.5 MAPAS DE OXIGENAÇÃO <i>IN VIVO</i>	141
6 CONCLUSÕES.....	146
7 PERSPECTIVAS FUTURAS	149
REFERÊNCIAS	151

1 INTRODUÇÃO

A COVID-19 é uma doença infecciosa causada pela Síndrome Respiratória Aguda Grave Coronavírus 2, também conhecida como SARS-CoV-2 (DE CAXIAS et al., 2021). Este vírus foi responsável pela última crise epidêmica e, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) (também conhecida como *World Health Organization*, ou WHO), até agosto de 2024 foram confirmados mais de 775 milhões de casos da doença e mais de 7 milhões de mortes (WHO, 2024).

Apesar da maioria das manifestações do coronavírus em seres humanos ser assintomática ou apresentar sintomas leves, uma parte dos infectados desenvolve problemas respiratórios graves e, às vezes, falência múltipla de órgãos. Os sintomas mais comuns, relacionados à doença, são: febre, tosse, dor de garganta, dores musculares, falta de ar e dores de cabeça (HALBOUB et al., 2020). Além disso, muitos pacientes hospitalizados com COVID-19 aguda também apresentam baixo nível de oxigênio no sangue, tecnicamente denominado de hipoxemia grave (GREENHALGH et al., 2021).

A hipoxemia, ou hipóxia, é caracterizado por uma saturação medida de oxigênio abaixo de 94% na ausência de doença pulmonar crônica ou abaixo de 88% na sua presença. Em muitos casos de pacientes que falecem devido à COVID-19, a progressão inicial da doença ocorre de maneira assintomática, sem apresentar sinais perceptíveis clinicamente. Esse fenômeno é conhecido como hipóxia silenciosa, no qual não são evidenciados sintomas clinicamente perceptíveis de dispneia, podendo evoluir para pneumonia e subsequentemente para a síndrome da angústia respiratória aguda (SARA) em um curto intervalo de tempo, geralmente uma semana (GREENHALGH et al., 2021).

Essa condição específica destaca a complexidade e a rápida evolução de determinadas manifestações clínicas associadas à infecção por COVID-19, ressaltando a importância da monitorização rigorosa e da intervenção precoce para mitigar complicações graves (GREENHALGH et al., 2021). Por isso, durante a pandemia de COVID-19, limiares de saturação de oxigênio foram empregados para definir a gravidade da doença, conferindo ao oxímetro de pulso um papel crucial em decisões de triagem e tratamento (FAWZY et al., 2023). No entanto, é importante notar que esse tipo de instrumento oferece apenas um monitoramento global do

paciente ou monitoramento local de áreas específicas (CHEN; DURR, 2020; GIOUX et al., 2011).

A capacidade de visualizar a oxigenação em grandes áreas de tecido possui um potencial significativo para aprimorar o manejo do paciente em contextos de cuidados intensivos. Ao possibilitar uma avaliação abrangente da oxigenação em áreas extensas, tecnologias que permitem essa visualização podem oferecer insights valiosos sobre a perfusão tecidual e a resposta do organismo, contribuindo para uma abordagem mais precisa e abrangente no tratamento de pacientes com COVID-19 e outras condições médicas críticas (CHEN; DURR, 2020; GIOUX et al., 2011).

Recentemente, a técnica SFDI surgiu como uma abordagem promissora para a medição de propriedades ópticas em tecidos biológicos. Esta técnica realiza a quantificação das propriedades ópticas de diferentes amostras ao projetar um padrão bidimensional de luz sobre elas e analisar os efeitos resultantes do espalhamento e absorção múltiplos no padrão de amplitude refletido, em função da frequência espacial da luz incidente (CHEN; DURR, 2020; GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019). Com isso, a SFDI permite a medição rápida (inferior a 1 segundo) e precisa das propriedades ópticas de tecidos biológicos cobrindo áreas extensas (superiores a $10 \times 10 \text{ cm}^2$) (GIOUX et al., 2011; SCHMIDT et al., 2019).

A capacidade da SFDI de realizar medições rápidas e precisas, juntamente com a capacidade de cobrir grandes áreas de tecido, a torna uma ferramenta promissora para diversas aplicações clínicas (GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019; ROWLAND et al., 2019; SAAGER et al., 2019; STEELMAN et al., 2019; TRAVERS et al., 2019), especialmente na avaliação da oxigenação em tempo real. Essa técnica pode oferecer uma contribuição valiosa para o monitoramento não invasivo da oxigenação em uma variedade de condições clínicas, proporcionando insights importantes para a tomada de decisões clínicas e otimização do tratamento (CHEN; DURR, 2020; GIOUX et al., 2011).

Neste estudo, apresentamos o desenvolvimento de uma técnica que combina a SFDI com uma rede neural artificial para determinar as concentrações de oxihemoglobina (Coxi), desoxihemoglobina (Cdeoxi) e a saturação de oxigênio (SpO_2) em tecidos biológicos. Em primeiro lugar, descrevemos o design do nosso sistema SFDI e seu funcionamento. Em segundo lugar, validamos o sistema SFDI por meio de medições controladas realizadas em fantasmas de tecido. Em terceiro

lugar, detalhamos o treinamento e a validação da rede neural artificial (RNA). E, por fim, apresentamos um estudo piloto *in vivo* para medições de oxigenação tecidual.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver um método não invasivo e não ionizante utilizando a técnica SFDI combinada com RNA para determinar as propriedades ópticas de tecidos biológicos. Com isso, quantificar os níveis de oxihemoglobina (HbO_2), desoxihemoglobina (Hb) e hemoglobina total no tecido, visando a quantificação da saturação de oxigênio (SpO_2) e o possível monitoramento de pacientes com SARS-CoV-2.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Produzir fantasmas de silicone para realização de testes, calibração, padronização e otimização dos equipamentos e técnicas ópticas utilizadas neste trabalho;
- Validar e calibrar o dispositivo óptico SFDI, projetado e montado na UFU, com o objetivo de determinar as propriedades ópticas (absorção e espalhamento) de tecidos biológicos.
- Utilizar os dados obtidos por meio de simulações computacionais do tipo Monte Carlo em algoritmos de otimização para treinar a RNA;
- Determinar as propriedades ópticas dos fantasmas de tecidos e de tecidos biológicos por meio da SFDI combinada com RNA e um modelo de propagação de luz baseada em teorias de difusão.
- Quantificar diferentes componentes dos tecidos (oxihemoglobina, desoxihemoglobina e hemoglobina total), que possuem parâmetros próprios de absorção e espalhamento que variam em relação ao comprimento de onda da luz incidida;
- Integrar a equipe dentro do projeto com os objetivos de pesquisa e desenvolvimento tecnológico;
- Publicar trabalhos referentes à linha de pesquisa do projeto em revistas internacionais.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 REFRAÇÃO

3.1.1 Índice de refração

Nas situações em que as dimensões de objetos analisados são muito maiores do que o comprimento da luz, a óptica geométrica é muito útil para descrever fenômenos como a reflexão e refração. Estes fenômenos ocorrem quando a luz entra em contato com a interface, ou fronteira, entre dois meios com diferentes propriedades ópticas (LU, 2016).

O índice de refração é aplicável para meios homogêneos, porém ele pode ser alterado para aplicações em meios heterogêneos. Ele é utilizado para descrever a velocidade da luz em um meio e como ela se comporta na interface ou fronteira entre dois meios diferentes. Por exemplo, podemos dizer que uma luz de comprimento de onda λ , que estava se propagando em um meio com índice de refração n_1 (o ar, por exemplo), passa a se propagar em um meio com índice de refração n_2 (a água, por exemplo). O índice de refração descreve a velocidade da luz em um meio, em relação a velocidade dela no vácuo. Esta grandeza é adimensional e pode ser representada pela Equação 1,

$$n = \frac{c}{c_m}, \quad (1)$$

no qual, c é a velocidade da luz no vácuo e c_m é a velocidade da luz no meio (LU, 2016; VO-DINH, 2015).

Sabendo que a velocidade da luz em um meio não pode ser maior do que a velocidade da luz no vácuo, os índices de refração dos meios são maiores do que 1. O índice de refração em diferentes meios biológicos varia entre 1,3 e 1,7, o que implica em uma redução da velocidade da luz entre 20 e 40%. Sendo que o índice de refração da água é 1,33 (LU, 2016; VO-DINH, 2015).

Uma vez que a luz viaja de um meio para outro, não só a velocidade dela que muda, mas também a direção. Esta mudança na direção de propagação dá origem a diferentes fenômenos ópticos, como a reflexão e refração. Para meios heterogêneos, como os tecidos biológicos, a luz também pode sofrer espalhamento. Portanto, o índice de refração é um parâmetro muito importante no estudo das propriedades ópticas dos materiais (LU, 2016; VO-DINH, 2015).

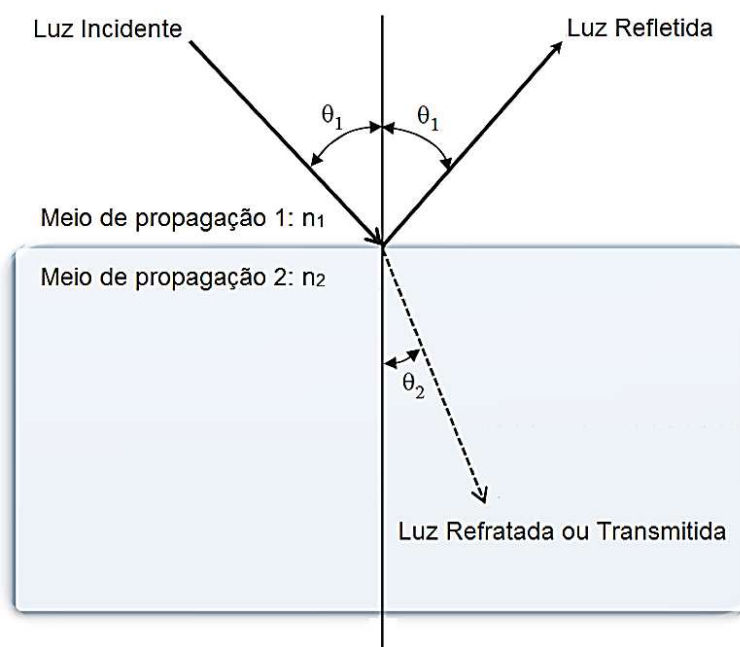
3.1.2 Refração e reflexão na interface entre dois meios

Se um feixe de luz incidir obliquamente sobre a superfície plana de um meio de propagação homogêneo, ela mudará sua direção de propagação no segundo meio. Este fenômeno é chamado de refração, e o quanto a luz é desviada depende diretamente dos valores relativos dos índices de refração dos dois meios. A refração da luz na interface de dois meios homogêneos é governada pela Lei de Snell, representada na Equação 2,

$$\sin\theta_2 = \frac{n_1}{n_2} \sin\theta_1, \quad (2)$$

no qual, θ_1 é o ângulo de incidência da luz em relação a normal da superfície do segundo meio e θ_2 é o ângulo de refração em relação a normal (LU, 2016; VO-DINH, 2015). Esta descrição está representada esquematicamente na Figura 1.

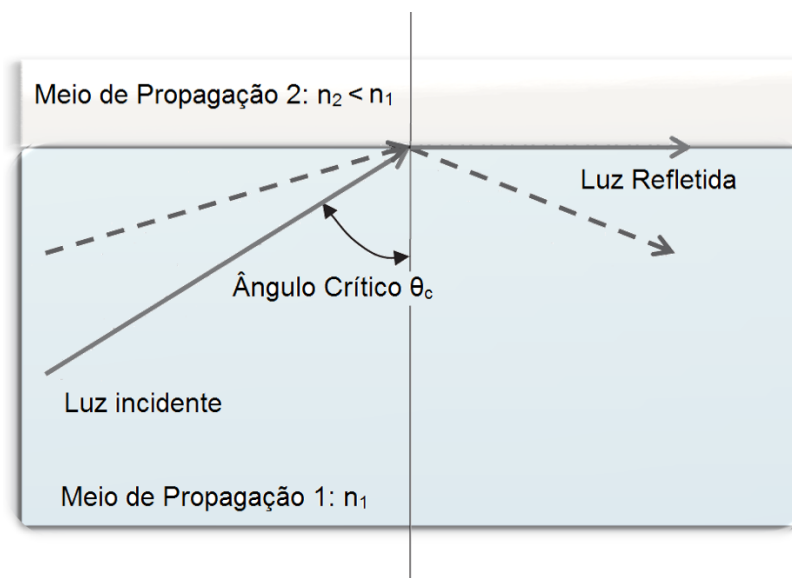
Figura 1 - Representação esquemática dos fenômenos de refração e reflexão na interface plana de dois meios homogêneos como índices de refração n_1 e n_2 .



No processo de interação da luz com a interface de dois meios homogêneos, além do fenômeno de refração, também ocorre a reflexão. A fração de luz que é refletida, deixará a interface no mesmo ângulo em que foi incidida em relação a normal. Este tipo de reflexão é chamada de reflexão de Fresnel e também está ilustrada na Figura 1. A quantidade de luz que será refletida e refratada dependerá dos índices de refração dos dois meios, do ângulo de incidência e o estado de polarização da luz incidida (LU, 2016; VO-DINH, 2015).

Um caso específico de reflexão é a reflexão interna total. Ela ocorre quando a luz viajando em um meio com índice de refração $n_1 > n_2$ entra em contato com a interface dos dois meios em um ângulo de incidência, em relação normal da superfície, maior que um ângulo específico. Este ângulo específico é chamado de ângulo crítico (θ_c). Nesta situação, nenhuma fração da luz é transmitida e, portanto, ela é totalmente refletida (LU, 2016). O processo de reflexão interna total está representado esquematicamente na Figura 2.

Figura 2 - Representação esquemática do fenômeno de reflexão interna total na interface plana de dois meios homogêneos como índices de refração n_1 e n_2 . Ela ocorre quando o ângulo da luz incidente é maior que um ângulo crítico (θ_c) e o índice de refração do primeiro meio é maior que do segundo, ou seja, $n_2 < n_1$.



O ângulo crítico pode ser obtido por meio da Lei de Snell, apresentada na Equação 2. Conforme o ângulo de incidência da luz se aproxima de um valor limite, que é ângulo crítico (θ_c), o ângulo de refração (θ_2) se aproxima de 90° , em que o feixe de luz refratado se torna paralelo a interface. Neste caso, $\sin(\theta_2) = 1$ e, portanto, o ângulo crítico poderá ser obtido por meio da Equação 3 (LU, 2016):

$$\theta_c = \sin^{-1}\left(\frac{n_2}{n_1}\right). \quad (3)$$

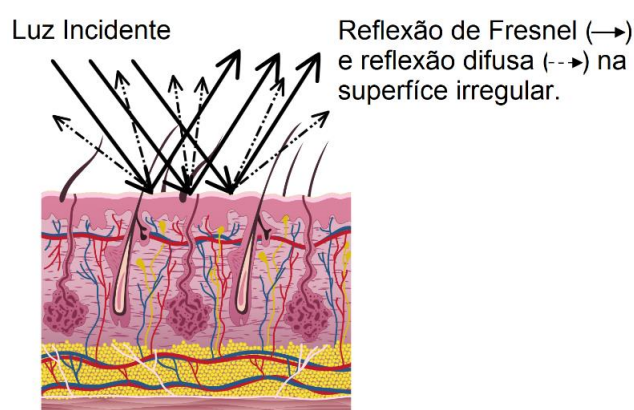
A reflexão interna total é de grande importância na tecnologia de fibra óptica. Endoscópios, detectores, transmissores e comunicadores de fibra óptica são todos baseados no princípio de reflexão interna total. Estes dispositivos transmitem sinais ópticos por longas distâncias com praticamente nenhuma perda de sinal (LU, 2016).

3.1.3 Refletância difusa e transmissão da luz

A reflexão e refração da luz na interface de dois meios homogêneos e com superfícies perfeitamente planas (até mesmo no nível microscópico) pode ser muito bem descrita por meio da Lei de Snell, ou seja, a Equação 2. Entretanto, a superfície de materiais biológicos não é perfeitamente plana e a composição e estrutura deles não são homogêneas. Neste caso, a interação da luz com a superfície destes materiais é mais complexa (LU, 2016).

Existem dois casos que são mais comuns de encontrar no mundo real: 1) casos em que a superfície do material é irregular, mas a estrutura interna é opticamente homogênea; e 2) casos em que a superfície do material é irregular e a composição e a estrutura interna não são opticamente homogêneas (a maioria dos materiais biológicos são assim). Para o primeiro caso, quando a luz incide na interface do material, uma pequena parte dela é refletida de acordo com a Lei de Snell, porém, a maior parte dela é refletida em ângulos aleatórios. Esse tipo de reflexão é chamado de refletância difusa e está ilustrada esquematicamente na Figura 3. Além disso, a fração de luz que conseguir penetrar no material será refratada e transmitida através dele (LU, 2016).

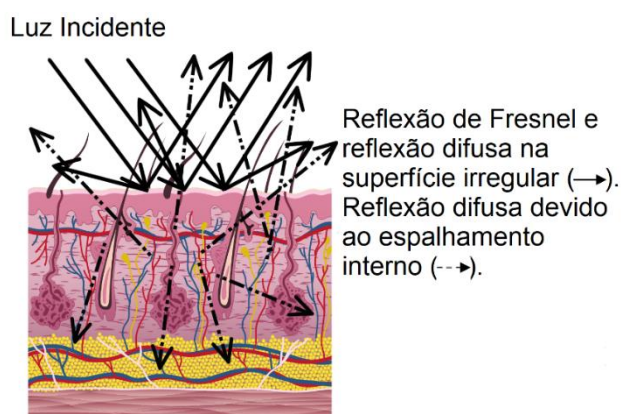
Figura 3 – Representação esquemática da reflexão de Fresnel e refletância difusa na superfície irregular da pele humana.



No segundo caso, uma pequena parte da luz incidente é refletida de acordo com a Lei de Snell e a maior parte dela também é refletida em ângulos aleatórios. Entretanto, a fração de luz que penetrar no material não homogêneo (túrbido) passará por processos de absorção e espalhamento simultâneos. Como resultado, a luz será espalhada em direções aleatórias até que seja completamente absorvida, reemergida na superfície de incidência ou transmitida na superfície oposta (LU, 2016; TUCHIN, 2015a).

A fração da luz que reemerge na superfície de incidência também será emitida em direções aleatórias e é interpretada como sendo uma luz difusa. Essa parcela de luz é chamada de refletância difusa do corpo (LU, 2016; TUCHIN, 2015a). O processo da interação da luz com uma superfície irregular e o meio não homogêneo está representado esquematicamente na Figura 4.

Figura 4 - Representação esquemática da reflexão de Fresnel e refletância difusa na superfície irregular de um material opticamente não homogêneo. Além disso, o fenômeno de espalhamento também está representado.



Em estudos práticos, é difícil separar a refletância difusa que ocorre na superfície do material da que ocorre proveniente do espalhamento dentro dele. Entretanto, estes dois tipos de reflexão possuem informações diferentes em relação ao meio analisado. A reflexão difusa proveniente da superfície é útil para estudar a morfologia na superfície, enquanto a refletância difusa devido ao espalhamento interno é utilizada para determinar as propriedades internas do meio (LU, 2016).

3.2 ABSORÇÃO DA LUZ

3.2.1 Processos de absorção

O processo de absorção luminosa ocorre quando a luz encontra uma partícula ou interface com um índice de refração diferente do ambiente em que ela se propagava, é absorvida e subsequentemente convertida em outra forma de energia, como calor. Neste processo, uma parte da energia da luz incidente é extraída por uma espécie atômica ou molecular. Este processo depende muito da composição química do meio, pois diferentes átomos e moléculas absorvem a luz em comprimentos de onda específicos (LU, 2016).

Os processos de absorção são importantes nas aplicações diagnósticas e terapêuticas na área de óptica biomédica. Para aplicações diagnósticas, utiliza-se o

fato de as transições entre dois níveis de energia de uma molécula serem bem definidas em comprimentos de onda específicos. Com isso, o espectro de absorção de uma molécula pode ser utilizado como “impressão digital” para fins de diagnóstico. A luz absorvida por uma molécula também pode ser emitida como fotoluminescência, que também pode ser usada como “impressão digital” molecular (VALEUR; BERBERAN-SANTOS, 2012; VO-DINH, 2015).

Os processos de absorção envolvem um estado quântico de um átomo ou molécula chamado de nível de energia, no qual a energia é bem definida ao longo do tempo. Durante o processo de absorção, o átomo ou molécula absorve energia de um fóton e muda seu estado quântico. Essa mudança é chamada de transição (HALLIDAY; RESNICK; WALKER, 2014; VO-DINH, 2015).

Quando a transição ocorre de nível com menor energia para um com maior energia, o átomo ou molécula deve absorver um fóton cuja energia seja igual a diferença entre os dois níveis, $E_{\text{fót}} = \Delta E$. A energia do fóton pode ser representada por meio da Equação 4,

$$E_{\text{fót}} = \frac{hc}{\lambda} = E_f - E_i, \quad (4)$$

no qual, h é a constante de Planck e c é velocidade da luz no vácuo (HALLIDAY; RESNICK; WALKER, 2014; VO-DINH, 2015). Quando a transição ocorre de nível com maior energia para um com menor, ela é chamada de decaimento, e é acompanhada pela liberação de energia igual a diferença de energia entre os dois níveis de energia. Essa liberação pode ocorrer sem emitir luz (como por meio de relaxamento vibracional) ou pela emissão de um fóton (como por meio de luminescência) (VALEUR; BERBERAN-SANTOS, 2012).

3.2.2 Seção transversal de absorção e coeficiente de absorção

Para um objeto absorvedor localizado em um meio, podemos definir a seção transversal de absorção (σ_a), que representa a taxa de absorção de luz devido a este objeto, por meio a Equação 5,

$$\sigma_a = \frac{P_{\text{abs}}}{I_0}, \quad (5)$$

no qual, I_0 é intensidade inicial de uma onda plana que incide no objeto absorvedor e P_{abs} é a quantidade de energia que foi absorvida por unidade de tempo. Supondo que o objeto absorvedor é esférico, a seção transversal de absorção se torna

independente da orientação relativa da luz incidente em relação ao objeto absorvedor. Dessa forma, assumindo que um meio possua uma distribuição uniforme de partículas absorvedoras idênticas, podemos também definir o coeficiente de absorção (μ_a), que é um parâmetro que descreve quanta luz um material absorve, por meio da Equação 6,

$$\mu_a = \rho_a \sigma_a, \quad (6)$$

no qual, ρ_a é uma constante que representa a densidade numérica dos objetos absorvedores. Utilizando o coeficiente de absorção, podemos definir o caminho livre médio de absorção (l_a), que é a distância média que um fóton percorre antes de ser absorvido, por meio da Equação 7,

$$l_a = \frac{1}{\mu_a}. \quad (7)$$

Nesta equação, l_a representa a distância na qual a intensidade da luz incidente é reduzida para 37% (e^{-1}) do seu valor inicial (VO-DINH, 2015).

Apesar da definição e descrição do coeficiente de absorção ser útil, podemos definir uma expressão mais direta para ele. Para um meio de propagação homogêneo, o coeficiente de absorção pode ser definido pela Equação 8,

$$dI(z) = -\mu_a I(z) dz, \quad (8)$$

no qual, dI é a variação infinitesimal na intensidade de um feixe de luz colimado que atravessa um caminho infinitesimal dz através de um meio de propagação homogêneo com coeficiente de absorção μ_a . Integrando a Equação 8 em relação à espessura z , obtemos a lei de Beer-Lambert, representada na Equação 9,

$$I = I_0 e^{-\mu_a z}. \quad (9)$$

Esta lei afirma que a mudança na atenuação da intensidade da luz em um meio é diretamente proporcional à distância na qual ela se propagou. Este processo está representado esquematicamente na Figura 5 (LU, 2016; VO-DINH, 2015).

Outro conceito utilizado para descrever as características absorvedoras de um meio de propagação é a transmissão (T). Ela é definida como a razão entre a intensidade transmitida (I) e a intensidade inicial da luz incidente (I_0) e pode ser representada pela Equação 10,

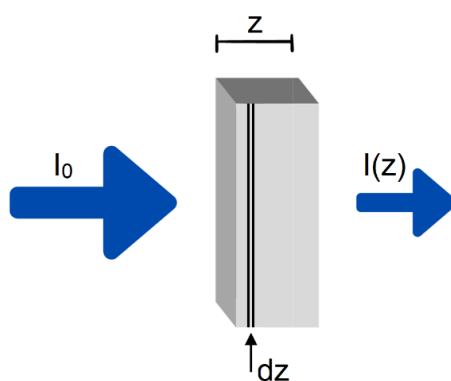
$$T = \frac{I}{I_0}. \quad (10)$$

Por meio do conceito de transmissão, podemos definir a atenuação, também chamada de absorbância (A) de um meio de propagação, conforme representada pela Equação 11,

$$A = \log_{10} \left(\frac{I_0}{I} \right) = -\log_{10}(T). \quad (11)$$

Gráficos da absorbância versus comprimento de onda são comumente utilizados para exibir espectros de absorção (VALEUR; BERBERAN-SANTOS, 2012; VO-DINH, 2015).

Figura 5 – Atenuação de um feixe de luz devido ao fenômeno de absorção, conforme especificado na lei de Beer-Lambert.



3.3 ESPALHAMENTO DA LUZ

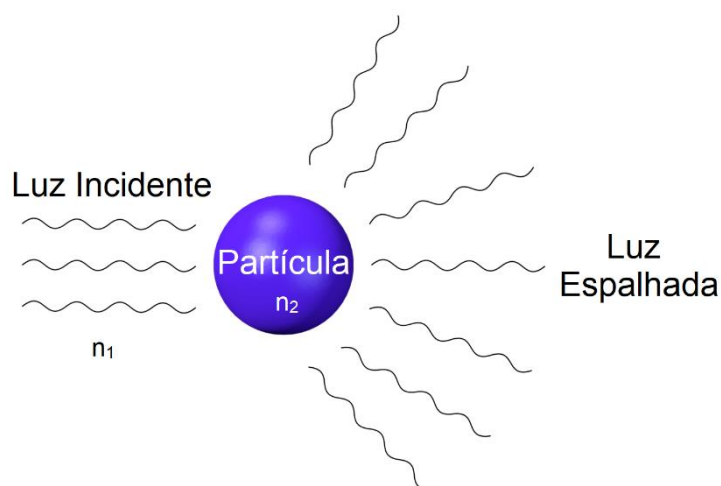
3.3.1 Espalhamento em uma partícula localizada

Na natureza podemos observar diversos fenômenos físicos relacionados ao espalhamento de luz, como por exemplo, quando o dia está ensolarado e o céu está azul. Isso acontece porque, quando a luz emitida pelo sol passa por pequenas partículas na atmosfera, elas espalham a luz predominantemente no comprimento de onda azul. A coloração branca do leite é outro exemplo de espalhamento de luz. No leite estão presentes moléculas de gordura e proteínas de tamanhos variados, que espalham a luz visível desde o comprimento de onda azul até o vermelho (GROSSWEINER et al., 2005; LU, 2016).

Na área de óptica biomédica, os processos de espalhamento são importantes para aplicações de diagnóstico e terapia (VO-DINH, 2015). Exemplos em que estes processos são importantes é na análise de tecidos e fluidos biológicos. Estas substâncias são altamente não homogêneas e, em muitos casos, a baixa penetração da luz visível é resultado do espalhamento da luz e não de absorções (GROSSWEINER et al., 2005).

O espalhamento ocorre quando a luz encontra um objeto com um índice de refração diferente do ambiente em que ela se propagava. Neste processo, uma parte da luz incidente é redirecionada em diversos ângulos, como pode ser observado na representação esquemática da Figura 6 (GROSSWEINER et al., 2005; VO-DINH, 2015). O espalhamento da luz é um processo que depende muito das características da luz incidente (por exemplo, a polarização e o comprimento de onda) e das propriedades estruturais do meio pelo qual ela viaja, como por exemplo, a densidade, tamanho, morfologia e composição das partículas (LU, 2016; VO-DINH, 2015).

Figura 6 – Representação esquemática do espalhamento da luz incidente em uma partícula incorporada em um meio com índice de refração diferente dela. Na ilustração, n_1 é o índice de refração do meio e n_2 é o índice de refração da partícula.



Se considerarmos a luz incidente como sendo uma onda plana, ou seja, uma onda que possui amplitude e frequência constantes e perpendiculares a direção de propagação, fica mais simples de descrever o processo de espalhamento. Para fins de praticidade, supõe-se que a onda plana seja muito maior que as dimensões transversais do objeto de espalhamento. Se soubermos os valores dos índices de refração dos dois materiais, o tamanho e a morfologia do objeto espalhador e o comprimento de onda da luz incidente, podemos calcular a intensidade da radiação espalhada usando a descrição clássica da propagação da luz (VO-DINH, 2015).

A taxa pela qual energia é transportada por uma onda de luz é descrita pela potência P , que normalmente é expressa em watts (W). A intensidade I , que representa a taxa pela qual a energia passa através de uma unidade de área, geralmente é expressa em watts por metro quadrado (W/m^2). Quando uma onda plana e monocromática, com intensidade inicial I_0 , incide em um objeto espalhador,

uma quantidade de potência P_{esp} é espalhada. P_{esp} representa a quantidade de energia espalhada. A razão entre a potência espalhada da onda plana e a intensidade incidente tem dimensões de área e é conhecida como seção transversal de espalhamento e pode ser representada pela Equação 12,

$$\sigma_s(\hat{s}) = \frac{P_{\text{esp}}}{I_0}, \quad (12)$$

no qual, $\hat{s}$ indica a direção de propagação da onda plana em relação ao objeto espalhador (VO-DINH, 2015).

As propriedades de espalhamento podem ser quantificadas usando a seção transversal de espalhamento, que é equivalente à área que um objeto deveria cortar da onda plana para remover a quantidade de energia espalhada. A seção transversal de espalhamento não representa necessariamente a área física projetada pelas partículas, ela apenas descreve a eficiência com que o objeto espalhador remove a energia da onda incidente. O espalhamento da luz também depende da polarização da onda de entrada, porém a Equação 12 pode ser utilizada como uma média dos estados de polarização ortogonais (VO-DINH, 2015).

A distribuição angular da radiação espalhada em relação à luz incidente, conforme ilustrado na Figura 7, pode ser representada pela seção transversal de espalhamento diferencial, conforme representado na Equação 13,

$$\frac{d\sigma_s}{d\Omega}(\hat{s}, \hat{s}'). \quad (13)$$

Nessa equação, $\hat{s}'$ define o eixo de um cone de ângulo $d\Omega$ originado no objeto espalhador. Se supormos que o objeto espalhador é esférico, então a seção transversal de espalhamento é independente da orientação relativa da luz incidente em relação ao objeto espalhador. Neste caso, a seção transversal de espalhamento pode ser representada como uma constante para um determinado comprimento de onda, conforme representado na Equação 14,

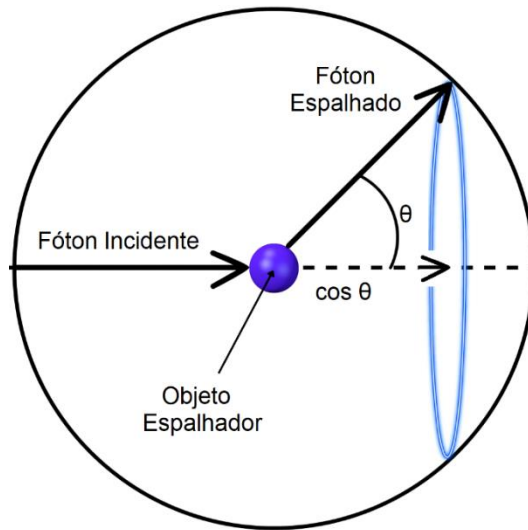
$$\sigma_s(\hat{s}) = \sigma_s. \quad (14)$$

Tal suposição implica que a seção transversal diferencial seja dependente apenas da orientação relativa do feixe incidente em relação ao feixe espalhado e pode ser representada por meio da Equação 15,

$$\frac{d\sigma_s}{d\Omega}(\hat{s}, \hat{s}') = \frac{d\sigma_s}{d\Omega}(\hat{s} \cdot \hat{s}'), \quad (15)$$

no qual, $\hat{s} \cdot \hat{s}' = \cos(\theta)$ e θ é o ângulo relativo entre a direção do feixe incidente e do feixe espalhado, conforme ilustrado na Figura 7 (VO-DINH, 2015).

Figura 7 – Representação esquemática da distribuição angular do espalhamento da luz incidida em um objeto espalhador.



Um meio que possui uma distribuição uniforme de objetos espalhadores idênticos pode ser caracterizado utilizando o coeficiente de espalhamento (μ_s), que é um parâmetro que descreve quanta luz um objeto é capaz de espalhar, representado na Equação 16,

$$\mu_s = \rho_s \sigma_s, \quad (16)$$

no qual, ρ_s é uma constante que representa a densidade numérica dos objetos espalhadores. Este coeficiente representa a seção transversal de espalhamento combinada de todas as partículas dentro de um volume unitário do meio. Utilizando o coeficiente de espalhamento, podemos definir o caminho livre médio de espalhamento (l_s), que é a distância média que um fóton percorre antes de ser espalhado, conforme representado na Equação 17,

$$l_s = \frac{1}{\mu_s}. \quad (17)$$

l_s representa a distância na qual a intensidade da luz incidente é reduzida para 37% (e^{-1}) do seu valor inicial (VO-DINH, 2015).

Assim como no processo de absorção, o processo de espalhamento em um meio opticamente homogêneo pode ser definido por meio da lei de Beer–Lambert, conforme representado na Equação 18,

$$I = I_0 e^{-\mu_s Z}. \quad (18)$$

Nela, I_0 é a intensidade inicial da luz incidente, μ_s é o coeficiente de espalhamento e z é a espessura do meio de propagação (LU, 2016).

O fenômeno de espalhamento pode ser classificado em três categorias, que são definidas pela razão entre as dimensões do objeto espalhador (como por exemplo o raio) em relação ao comprimento de onda da luz incidente (obtendo, por exemplo, a/λ). Estas três categorias são: (1) o espalhamento Rayleigh, no qual o objeto espalhador é muito menor que o comprimento de onda da luz incidente; (2) o espalhamento Mie, no qual o tamanho do objeto espalhador e o comprimento de onda da luz incidente são comparáveis; e (3) o limite geométrico, no qual o objeto espalhador é muito maior que comprimento de onda incidente (VO-DINH, 2015).

O fenômeno de espalhamento também pode ser classificado em duas categorias, que são definidas em relação a troca de energia que ocorre entre o fóton incidente e o meio de propagação. Estas duas categorias são: espalhamento elástico e inelástico. O espalhamento elástico ocorre quando a frequência dos fótons incidentes e espalhados não muda, ou seja, não ocorre troca de energia entre os fótons e as partículas do meio de propagação. O espalhamento inelástico ocorre quando os fótons ganham ou perdem energia durante a interação com meio de propagação, alterando a frequência deles. O espalhamento Raman é um exemplo de fenômeno de espalhamento inelástico (LU, 2016; VO-DINH, 2015).

3.3.2 Espalhamento Rayleigh

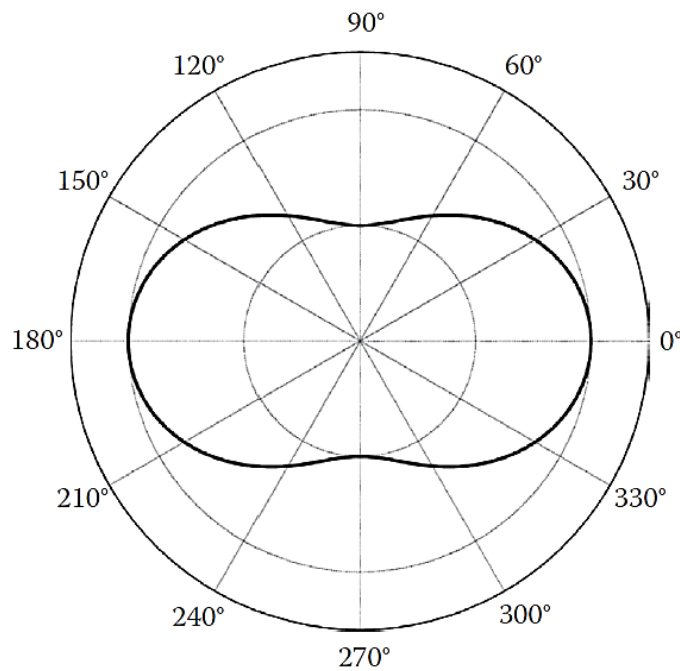
O espalhamento Rayleigh é observado quando os objetos espalhadores são muito menores que o comprimento de onda da luz incidente. Alguns exemplos desses objetos espalhadores são: as membranas, as organelas celulares menores e componentes extracelulares, como as fibrilas colágenas. Devido ao pequeno tamanho desses objetos em relação ao comprimento de onda da luz incidente, a qualquer momento o campo elétrico da onda de luz é uniforme sobre o volume do objeto espalhador. Essa situação faz com que surja um momento de dipolo no objeto espalhador que oscila na mesma frequência do campo elétrico da luz incidente e, conseqüentemente, emite radiação de dipolo elétrico (GROSSWEINER et al., 2005; VO-DINH, 2015).

Para uma partícula esférica de raio “ a ”, a seção transversal diferencial é representada pela Equação 19,

$$\frac{d\sigma_s}{d\Omega} = 8\pi^4 n_m^4 \left(\frac{n_s^2 - n_m^2}{n_s^2 + 2n_m^2} \right) \frac{a^6}{\lambda^4} (1 + \cos^2\theta), \quad (19)$$

no qual, θ é o ângulo entre a direção da onda incidente e a direção de interesse da onda espalhada, n_m e n_s são, respectivamente, os índices de refração do meio e do objeto espalhador e λ é o comprimento de onda da luz no vácuo. Um exemplo da distribuição do espalhamento Rayleigh da luz proveniente de uma onda plana em função do ângulo de espalhamento está representada na Figura 8 (VO-DINH, 2015).

Figura 8 - Distribuição do espalhamento Rayleigh da luz proveniente de uma onda plana em função do ângulo. $\theta = 0^\circ$ é a direção em que o feixe de luz é incidido. Esta representação é referente a uma luz incidente não polarizada. Adaptado de Vo-Dinh 2015.



A intensidade do espalhamento Rayleigh é maior nas direções para frente ($\theta = 0^\circ$) e para trás ($\theta = 180^\circ$) e reduzida pela metade do máximo na direção perpendicular à propagação da luz incidente ($\theta = 90^\circ$ e 270°). Este espalhamento é muito sensível ao raio da partícula (representado na Equação 19 por a^6) e ao comprimento da onda de luz incidente (representado na Equação 19 por λ^{-4}). Essa forte dependência do espalhamento Rayleigh em relação ao comprimento de onda explica o céu azul do dia, que ocorre porque as pequenas partículas presentes na atmosfera espalham principalmente a luz azul em direção a superfície da Terra (GROSSWEINER et al., 2005; VO-DINH, 2015).

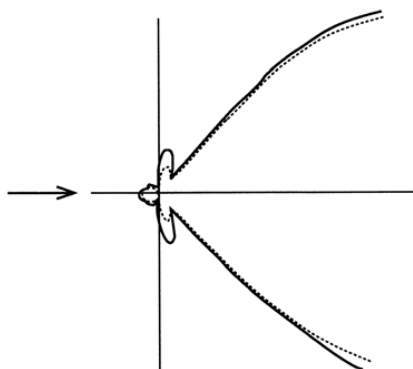
3.3.3 Espalhamento Mie

O espalhamento da luz por objetos espalhadores esféricos com tamanhos comparáveis ao comprimento de onda da luz incidente é descrito pela teoria de Mie. Alguns exemplos desses objetos são: mitocôndrias e núcleos, que têm tamanhos que variam entre centenas de nanômetros a alguns micrômetros. Como o tamanho desses objetos em relação ao comprimento de onda da luz incidente são da mesma ordem de grandeza, o campo elétrico da onda de luz varia sobre o volume do objeto espalhador, provocando uma resposta mais complexa (VO-DINH, 2015).

Essa situação faz com que as cargas elétricas do objeto oscilem na frequência do campo elétrico incidido e emitam radiação com uma variação espacial mais complexa e variada, em relação ao espalhamento Rayleigh. Neste caso, pode haver picos e nulidades na distribuição angular da luz espalhada em comprimentos de onda específicos. O espalhamento Mie depende, dentre outros fatores, da morfologia do objeto espalhador e do comprimento de onda da luz incidida (VO-DINH, 2015).

Um resultado importante da teoria de Mie é que, quando as partículas são muito maiores do que o comprimento de onda da luz incidente, o espalhamento ocorre predominantemente para frente, na mesma direção em que o feixe de luz foi incidido. Na Figura 9 está ilustrado um padrão angular de espalhamento que foi calculado para o espalhamento de uma onda de luz verde por uma esfera dielétrica de $0,5\ \mu\text{m}$ de diâmetro. A intensidade da luz espalhada para frente é cerca de 200 vezes mais forte do que a espalhada para trás (GROSSWEINER et al., 2005).

Figura 9 - Padrão angular do espalhamento da luz verde por uma esfera dielétrica de $0,5\ \mu\text{m}$ de diâmetro. A linha sólida e a linha tracejada foram obtidas aplicando-se os componentes de polarização vertical e horizontal da luz, respectivamente. Adaptado de Grossweiner et al. 2005.



3.3.4 Regime da difusão

Nas situações em que a penetração de luz em um meio não homogêneo (túrbido) é significativa, ou seja, a absorção da luz é baixa, o espalhamento é o processo de transporte dominante. Essa situação é chamada de regime de difusão. No processo de difusão, os fótons se propagam através do material em direções e comprimentos aleatórios. Entretanto, cada etapa de propagação começa com um evento de espalhamento e é igualmente provável que a luz se mova em qualquer direção (JACQUES; PRAHL, 2017; VO-DINH, 2015).

Por meio desse comportamento, é possível definir um espalhamento isotrópico efetivo que é descrito pelo coeficiente de espalhamento reduzido μ'_s . Esse coeficiente é utilizado para descrever a difusão de fótons em uma direção aleatória de comprimento $1/\mu'_s$, no qual, cada movimento envolve um espalhamento isotrópico. Isso é equivalente a descrever o movimento dos fótons por meio de pequenos movimentos de comprimento $1/\mu_s$, no qual, cada um apresenta um ângulo de deflexão parcial anisotrópico θ (JACQUES; PRAHL, 2017; VO-DINH, 2015).

O parâmetro básico para aproximação da difusão é o coeficiente de espalhamento reduzido, descrito anteriormente. Ele pode ser representado por meio da Equação 20,

$$\mu'_s = \mu_s(1 - g), \quad (20)$$

no qual, μ_s é o coeficiente de espalhamento linear e g é o fator de anisotropia, também chamado de fator anisotrópico. Em média, o número de eventos de espalhamento linear (μ_s) que são equivalentes a um único evento de espalhamento isotrópico (μ'_s) é representado por $1/(1 - g)$ (GROSSWEINER et al., 2005; VO-DINH, 2015).

O fator anisotrópico (g) representa o cosseno médio do ângulo de espalhamento, e pode variar de -1 a +1. Para $g = 0$, a probabilidade de espalhamento nas direções para frente e para trás é igual. Para $g = 1$, o espalhamento ocorre idealmente para frente, ou seja, o ângulo de espalhamento é de 0° . Para $g = -1$, o espalhamento ocorre idealmente para trás e é chamado de retroespalhamento, ou seja, o ângulo de espalhamento é de 180° . Os valores experimentais típicos de g para tecidos biológicos e meios de propagação túrbidos variam entre 0,7 e 0,9, que corresponde a um ângulo de espalhamento médio que varia entre 25° e 45° (GROSSWEINER et al., 2005).

Por meio do coeficiente de espalhamento reduzido, também é possível definir o caminho livre médio de transporte (l_{tr}) (TMFP, do inglês *transport mean free path*) de um fóton. Este parâmetro descreve a distância média que um fóton percorre em uma amostra antes que sua direção inicial seja modificada, e pode ser representado pela Equação 21:

$$l_{tr} = \frac{1}{\mu_a + \mu'_s}. \quad (21)$$

Além disso, podemos definir o coeficiente de transporte de um fóton por meio da Equação 22 (TUCHIN, 2015a; VO-DINH, 2015),

$$\mu_{tr} = \mu_a + \mu'_s. \quad (22)$$

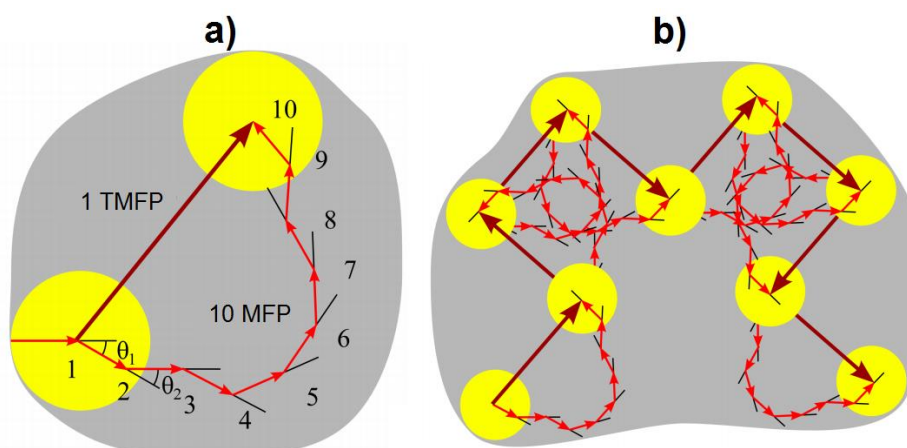
Em tecidos biológicos e meios túrbidos, na região do visível e do infravermelho próximo, a absorção da luz é baixa e, portanto, o espalhamento é o processo de transporte dominante. Neste caso, $\mu'_s \gg \mu_a$ e o caminho livre médio de transporte pode ser aproximado por meio da Equação 23:

$$l_{tr} \cong \frac{1}{\mu'_s}. \quad (23)$$

Portanto, o coeficiente de espalhamento reduzido é o principal parâmetro que descreve a propagação da luz em um caminho aleatório de comprimento l_{tr} , no qual, cada passo envolverá um espalhamento isotrópico (TUCHIN, 2015a; VO-DINH, 2015).

Na Figura 10 está representado esquematicamente a equivalência entre executar 10 movimentos menores, com caminho livre médio (MFP, do inglês *mean free path*) de comprimento $MFP = 1/\mu_s$ e ângulos de deflexão anisotrópicos, e um movimento de caminho livre médio maior e de comprimento $TMFP = 1/\mu'_s$. Esta aproximação faz sentido somente se $\mu'_s \gg \mu_a$, ou seja, quando ocorrem muitos eventos de espalhamento antes que um evento de absorção ocorra durante a propagação de um fóton por um meio (JACQUES; PRAHL, 2017; TUCHIN, 2015a; VO-DINH, 2015).

Figura 10 – Equivalência em executar 10 movimentos menores de caminho livre médio (MFP) de comprimento ($\text{MFP} = 1/\mu_s$) com ângulos de deflexão anisotrópicos e um movimento com um caminho livre médio maior e de comprimento ($\text{TMFP} = 1/\mu_s'$). As partículas espalhadoras são representadas pelos discos amarelos e as flechas vermelhas menores indicam as direções de propagação do fóton no meio, durante interações de espalhamento consecutivas. As flechas maiores representam a direção efetiva da migração dos fótons como resultado de múltiplos espalhamentos. Adaptado de Tuchin 2015a.



3.4 TECIDOS BIOLÓGICOS

3.4.1 Classificação geral dos tecidos biológicos

Os tecidos biológicos são formados basicamente por três constituintes: 1) as células; 2) a matriz extracelular (ECM, do inglês *extracellular matrix*), que é o conjunto de macromoléculas e minerais extracelulares (como, por exemplo, o colágeno, enzimas, proteínas e hidroxiapatita) que providenciam sustentação e suporte biológico para as células; e 3) os sistemas de sinalização, que são codificados pelos genes (no núcleo das células) e podem ser ativados por meio de sinais transferidos para a matriz extracelular ou outras células. Juntos, estes três componentes podem interagir para formar tecidos e órgãos (MCHALE; BERGMANN; WEST, 2012).

Existem diversas maneiras de classificar os tecidos biológicos, como os órgãos ou sistemas dos quais eles pertencem. Outra maneira bem útil de classificá-los, é por meio da morfologia deles. Em relação a morfologia, eles podem ser classificados em quatro grupos distintos: 1) tecidos epiteliais; 2) conjuntivos; 3) musculares; e 4) nervosos (TUCHIN, 2015b).

Os tecidos epiteliais são formados por camadas de células que tem como função, por exemplo, cobrir a superfície de órgãos. Exemplos destes tecidos são: a

superfície da pele, as vias aéreas e a superfície interna do trato gastrointestinal (TUCHIN, 2015b). Os tecidos conjuntivos são formados por células que são separadas por uma matriz extracelular. Estes tecidos também podem ser classificados em outras cinco categorias: 1) conjuntivo frouxo; 2) conjuntivo denso; 3) elástico; 4) reticular; e 5) adiposo. Exemplos destes tecidos são: o sangue, os ossos, a cartilagem e as fibras reticulares (KULIKOV; KOSHLAN, 2018; TUCHIN, 2015b, 2016).

Os tecidos musculares são formados por tecidos ativamente capazes de produzir contração. Eles podem ser classificados em três categorias: 1) músculos lisos, que podem ser encontrados nas paredes internas de órgãos ocos, como por exemplo, os vasos sanguíneos e o trato gastrointestinal; 2) músculos esqueléticos, que são encontrados presos aos ossos e são responsáveis pelo movimento bruto; e 3) músculos cardíacos, que são encontrados no coração e são responsáveis pelas contrações que bombeiam sangue no organismo (TUCHIN, 2015b). Por último, os tecidos nervosos são compostos pelas células que formam o sistema nervoso central (composto pelo cérebro e a medula espinhal) e o sistema nervoso periférico (composto pelos nervos periféricos ramificados). Estes tecidos são responsáveis por receber, interpretar e reagir à estímulos no organismo (MUCKOM et al., 2020; TUCHIN, 2015b).

3.4.2 Composição e estrutura da pele humana

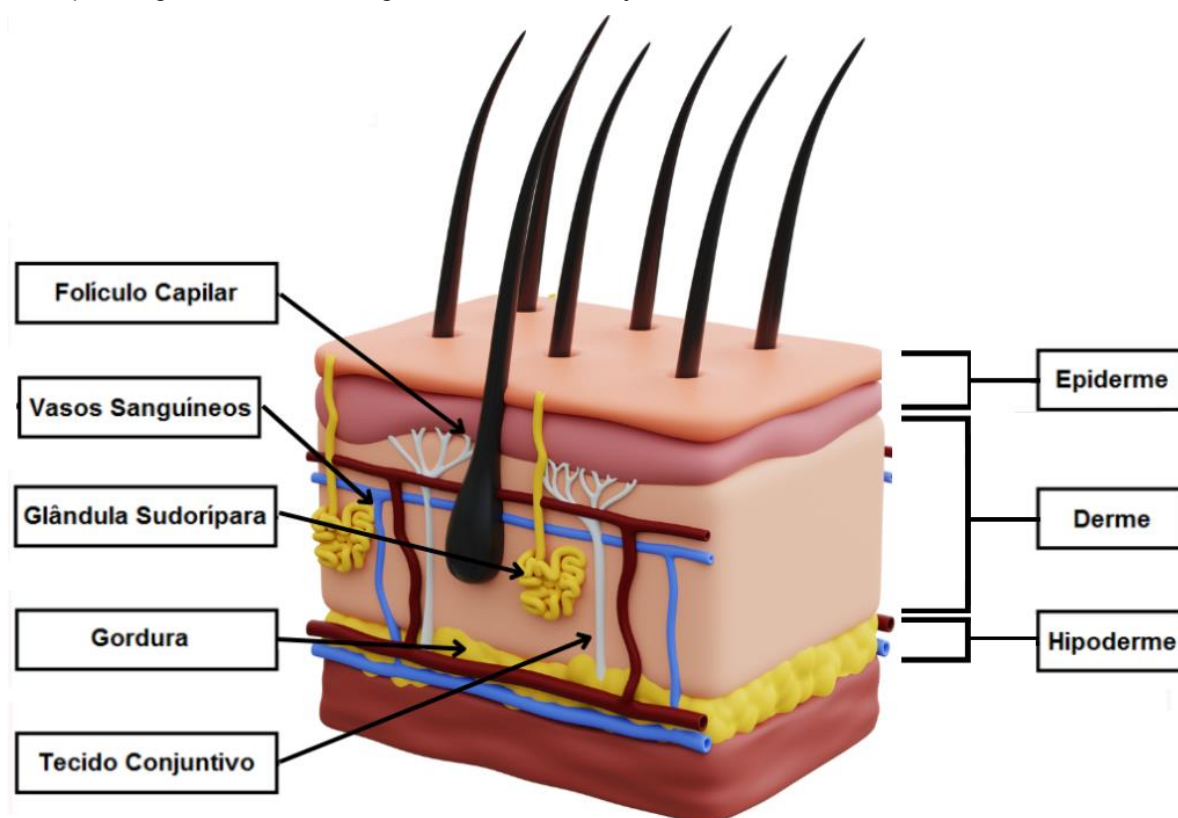
Os tecidos epiteliais são compostos por camadas de células epiteliais aderidas umas às outras, com a ausência ou com pouca presença de substância intercelular entre elas. Eles são responsáveis pelo revestimento de órgãos, superfícies expostas, cavidades e tubos no organismo. Este revestimento tem como função a proteção contra agentes externos, absorção e secreção de substâncias (CAMMAROTA et al., 2020; TUCHIN, 2015b).

Como foi mencionado anteriormente, a pele humana é um exemplo de tecido epitelial. Ela é o maior órgão do corpo humano, correspondendo entre 1,5 e 2,0 m² de área superficial e representando um sexto do peso corporal. Este tecido tem como função proteger o organismo contra agentes externos e promover respostas do organismo em relação às mudanças nas condições ambientais. Ela pode, por exemplo, ajudar a regular a temperatura corporal, regular a perda de água do

organismo, proteger contra radiação ultravioleta (UV) e proteger contra impactos e atritos (TUCHIN, 2015b).

A pele humana é composta por três camadas principais: 1) a epiderme; 2) a derme; e 3) a hipoderme. Uma representação esquemática da estrutura biológica da pele humana está apresentada na Figura 11. Dentre as três camadas, a epiderme é a camada mais externa e, portanto, tem como função proteger a parte interior de influências ambientais exteriores. A espessura média da epiderme varia entre 75 e 150 μm , na maior parte do corpo (KULIKOV; KOSHLAN, 2018; SINHA; DEY-RAO, 2018; TUCHIN, 2015b).

Figura 11 - Representação esquemática da estrutura biológica da pele humana, composta por três camadas principais: a epiderme, a derme e a hipoderme. Além das diferentes camadas que a compõe, ela também possui diversos componentes, como, por exemplo, folículos capilares, glândulas sudoríparas, gordura, vasos sanguíneos e tecido conjuntivo.



90% da epiderme é composta por queratinócitos, que são responsáveis por formar uma barreira mecânica em relação ao ambiente externo e estão ativamente envolvidos em respostas autoimunes contra atividade microbiana. Os outros 10% são formados por melanócitos, que são responsáveis pela produção e distribuição de melanina na pele. A melanina é uma proteína, cuja principal função é a produção

de pigmentação responsável pela proteção da pele contra radiação UV (KULIKOV; KOSHLAN, 2018; SINHA; DEY-RAO, 2018; TUCHIN, 2015b).

A derme é composta principalmente por uma densa matriz extracelular, capaz de comportar a presença dos vasos sanguíneos, nervos, folículos capilares e glândulas sudoríparas. Todos estes componentes são separadamente formados por populações de células diferentes. Dentre estes componentes, os fibroblastos são células responsáveis por sintetizar a matriz extracelular, que é formada principalmente por colágeno e fibras elásticas. As fibras de colágenos se acumulam paralelamente à superfície da pele e são responsáveis por sua elasticidade. A derme é mais grossa que a epiderme e possui uma espessura que varia entre 1500 e 2000 μm (GRAHAM et al., 2019; KULIKOV; KOSHLAN, 2018; TUCHIN, 2015b).

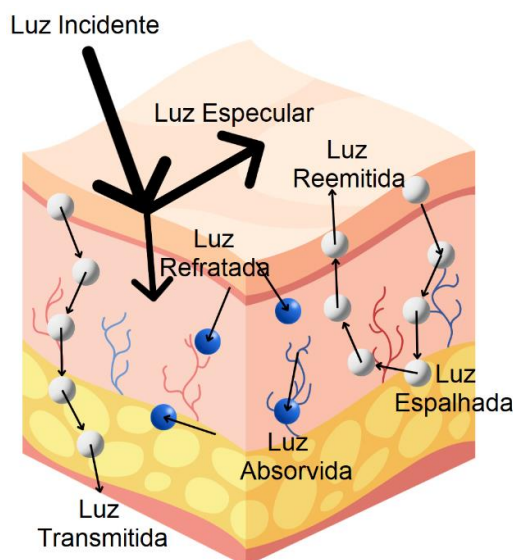
Por último, a hipoderme é parte mais profunda da pele, que é quimicamente composta principalmente por ácidos graxos. Estes ácidos são responsáveis pelo isolamento térmico, regulação térmica, acúmulo de nutrientes e proteção dos órgãos internos. Estruturalmente, a hipoderme é composta por um forte tecido conjuntivo permeado por adipócitos, também conhecidos como células adiposas. Os adipócitos se acumulam em grandes aglomerados que são mantidos unidos por fibras de colágeno. Além disso, existe uma grande presença de vasos sanguíneos na hipoderme, o que permite uma rápida distribuição de nutrientes, quando é necessário (GRAHAM et al., 2019; TUCHIN, 2015b).

3.4.3 Propriedades óticas dos tecidos biológicos

Os tecidos biológicos são meios não homogêneos (túrbidos) e dielétricos que possuem índices de refração maiores do que o ar. Com isso, quando uma radiação eletromagnética interage com esses tecidos, mudando de meio de propagação, do ar para o tecido, por exemplo, parte dela é refletida de forma espelhada (também chamada de reflexão de Fresnel), outra parte é refletida de forma difusa (chamada de refletância difusa) e a outra parte penetra no tecido. Se o ângulo de incidência da radiação em relação a uma linha perpendicular ao plano do tecido for diferente de 0° , a luz que penetra mudará sua direção de propagação. Este fenômeno é chamado de refração e ocorrerá sempre que a luz passar obliquamente de um meio para outro que possua um índice de refração diferente (KULIKOV; KOSHLAN, 2018; TUCHIN,

2015a). Os fenômenos de reflexão especular (reflexão de Fresnel), refletância difusa interna e refração estão representados esquematicamente na Figura 12.

Figura 12 – Representação esquemática de diferentes formas de interação da luz com o tecido biológico.



O índice de refração de tecidos biológicos é de grande importância em estudos que envolvem a interação da luz com eles. Tipicamente, o índice de refração de tecidos biológicos, na região do visível (aproximadamente entre 400 e 700 nm), varia entre 1,335 e 1,620. Alguns exemplos são: 1,386 para o cristalino, 1,550 para o estrato córneo e 1,620 para o esmalte dentário (TUCHIN, 2015a).

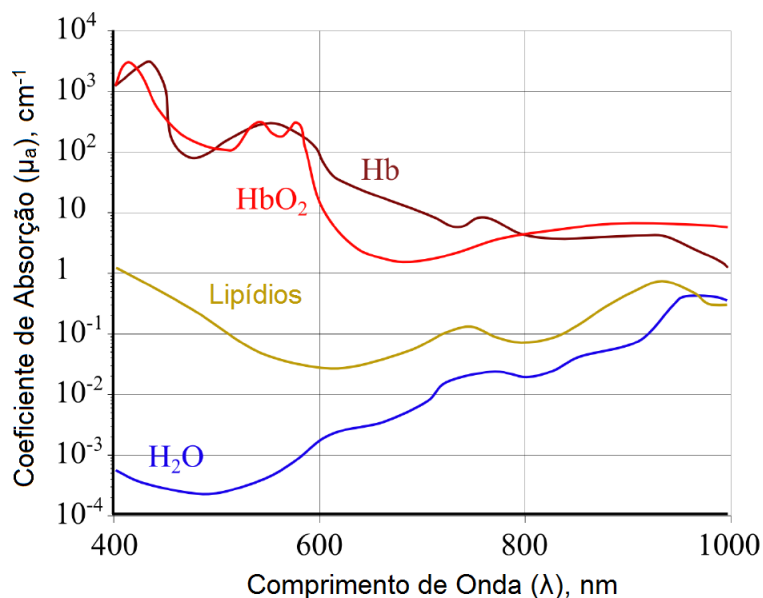
Conforme a luz se propaga dentro do tecido, ela interage com células, organelas celulares e estruturas fibrosas. A forma como a luz se propaga dependerá do tamanho, forma, composição química, densidade e índice de refração destas estruturas, além do estado de polarização da luz incidente. Isso ocorre porque estas estruturas servem como partículas absorvedoras e espalhadoras de luz (LU, 2016; TUCHIN, 2015a).

Portanto, conforme a luz interage com essas partículas, processos múltiplos de absorção e espalhamento ocorrerão até que ela seja completamente absorvida ou reemergida na superfície do tecido. Os processos de espalhamento, absorção e refletância difusa do corpo também estão representados esquematicamente na Figura 12. Cada tecido biológico possui uma estrutura e composição química única, que é responsável por determinar as propriedades ópticas de absorção e espalhamento deles (LU, 2016; TUCHIN, 2015a).

3.4.4 Espectro de absorção e agentes absorvedores de luz no tecido biológico

Na espectroscopia, o espectro de absorção é um espectro formado por uma radiação de espectro contínuo que passou por um meio e sofreu absorção em determinados comprimentos de onda. Ele pode ser representado como a dependência do coeficiente de absorção (μ_a) em função do comprimento de onda (λ) da luz que foi absorvida. Os maiores absorvedores de luz em tecidos biológicos são a água (H_2O), lipídios, oxihemoglobina (HbO_2) e desoxihemoglobina (Hb). Substâncias absorvedoras de luz são conhecidas como cromóforos (TUCHIN, 2015a). Espectros de absorção típicos dos cromóforos mencionados acima, na região entre o ultravioleta (UV), visível (VIS), infravermelho (IR, do inglês *infrared*) e infravermelho próximo (NIR, do inglês *near-infrared*) estão apresentados nas Figuras 13, 14 e 15.

Figura 13 – Espectro de absorção dos principais cromóforos nos tecidos biológicos, que são: água (H_2O), lipídios, oxihemoglobina (HbO_2) e desoxihemoglobina (Hb). Este espectro está na região entre o visível (aproximadamente entre 400 e 700 nm) e o infravermelho próximo (aproximadamente entre 700 e 2500 nm). Adaptado de Tuchin 2015a.



No espectro que absorção dos cromóforos apresentados anteriormente, existe uma região em que a absorção da luz pelo conjunto de cromóforos é mínima e a luz penetra mais profundamente nos tecidos. Esta região é chamada de janela terapêutica e, na Figura 13, está localizada entre 700 e 1100 nm. Existem também duas outras janelas mais estreitas e menos transparentes, entre 1300 e 1600 nm, que podem ser observadas na Figura 14. Devido ao fato de a água ser o componente

mais abundante nos tecidos, isso faz com que, frequentemente, o valor total do coeficiente de absorção seja dominado por ela, principalmente na região infravermelho (IR), como pode ser observado nas Figuras 14 e 15 (TUCHIN, 2015a).

Figura 14 - Espectro de absorção da água (H_2O) e lipídios na região do infravermelho próximo. Adaptado de Tuchin 2015a.

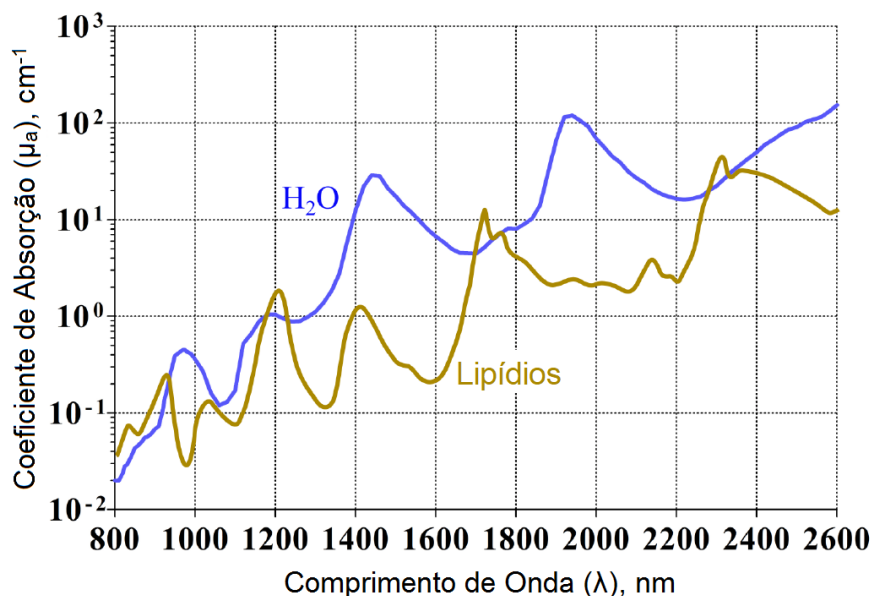
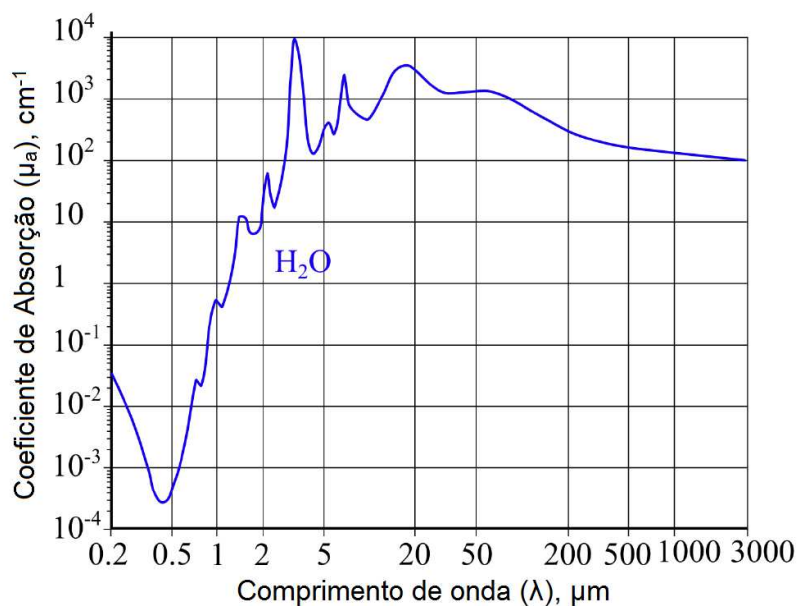


Figura 15 - Espectro de absorção da água (H_2O) na região entre o ultravioleta (aproximadamente entre 0,1 e 0,4 μm), visível (VIS) e infravermelho (aproximadamente entre 0,7 e 3000 μm). Adaptado de Tuchin 2015a.

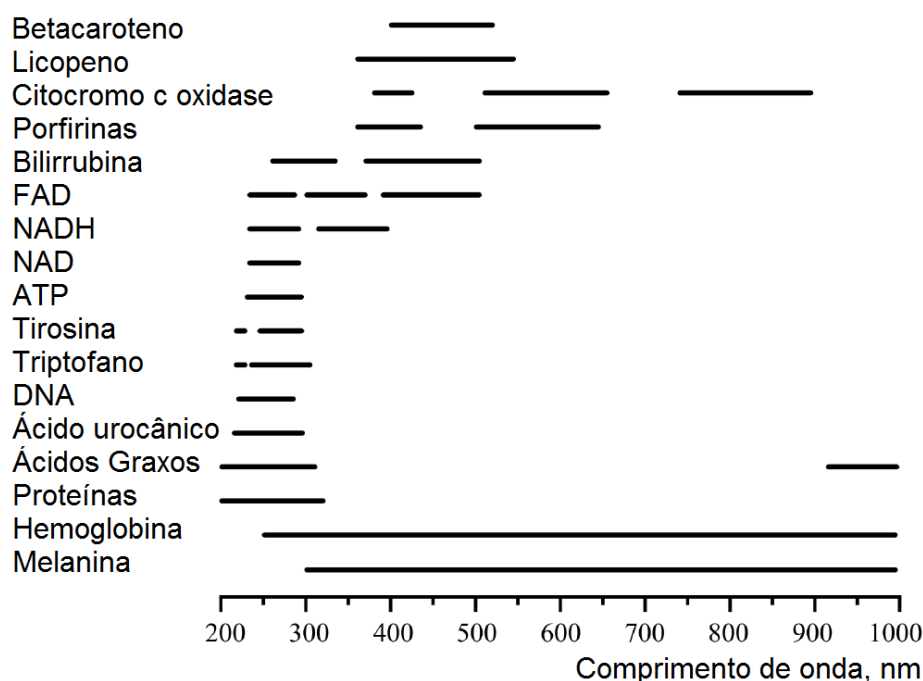


A absorção de luz em tecidos biológicos na região do ultravioleta, visível e infravermelho, é governada pela excitação eletrônica de cromóforos. A excitação ocorre em regiões onde há ligações insaturadas (ligações covalentes duplas ou triplas) conjugadas (separadas por ligações simples) e em regiões aromáticas. Estas

regiões também são conhecidas como cromóforos. Além disso, a excitação também ocorre em regiões que contêm água (KULIKOV; KOSHLAN, 2018; TUCHIN, 2015a).

Cada cromóforo apresenta padrões específicos de absorção espectral, conforme pode ser observado nas Figuras 13, 14 e 15. Existem diversas outras substâncias cromóforas em tecidos biológicos, além das apresentadas anteriormente. Como um exemplo, na Figura 16 estão apresentados os principais cromóforos, juntamente com suas respectivas regiões espectrais de absorção, encontrados nos tecidos que compõe a pele humana (TUCHIN, 2015a).

Figura 16 - Principais cromóforos, juntamente com suas respectivas regiões espectrais de absorção, encontrados nos tecidos que compõe a pele humana. Dentre estes, FAD é a sigla para dinucleótido de flavina e adenina (do inglês *flavin adenine dinucleotide*), NADH é a sigla para dinucleótido de nicotinamida e adenina reduzido (do inglês *nicotinamide adenine dinucleotide*, no qual, H representa a forma reduzida), NAD é a sigla para dinucleótido de nicotinamida e adenina oxidado, ATP é a sigla para trifosfato de adenosina (do inglês *adenosine triphosphate*) e DNA é a sigla para ácido desoxirribonucleico (do inglês *deoxyribonucleic acid*). Adaptado de Tuchin 2015a.



As proteínas encontradas na epiderme contêm tirosina e triptofano. Estes aminoácidos possuem anéis aromáticos que apresentam picos de absorção característicos entre 270 e 280 nm. O ácido urocânico, juntamente com o DNA, apresentam um pico de absorção característico entre 260 e 270 nm. A melanina, presente na epiderme, absorve luz entre 300 e 1000 nm, porém, ela apresenta maior absorção na região do ultravioleta. Na região visível do espectro, as absorções dela costumam ser predominantes (KULIKOV; KOSHLAN, 2018; TUCHIN, 2015a).

Na derme, os principais cromóforos são a oxihemoglobina (HbO_2), desoxihemoglobina (Hb), bilirrubina, carotenoides e porfirinas. Conforme pode ser observado na Figura 13, a oxihemoglobina (HbO_2) apresenta seu maior pico de absorção em 415 nm, mas possui dois outros picos em 542 e 577 nm. A desoxihemoglobina (Hb) apresenta seu maior pico em 430 nm e uma banda de absorção em 555 nm. Ambas apresentam baixa intensidade de absorção em comprimentos de onda acima de 620 nm. A bilirrubina apresenta uma banda de absorção em 330 e outra em 460 nm (KULIKOV; KOSHLAN, 2018; TUCHIN, 2015a).

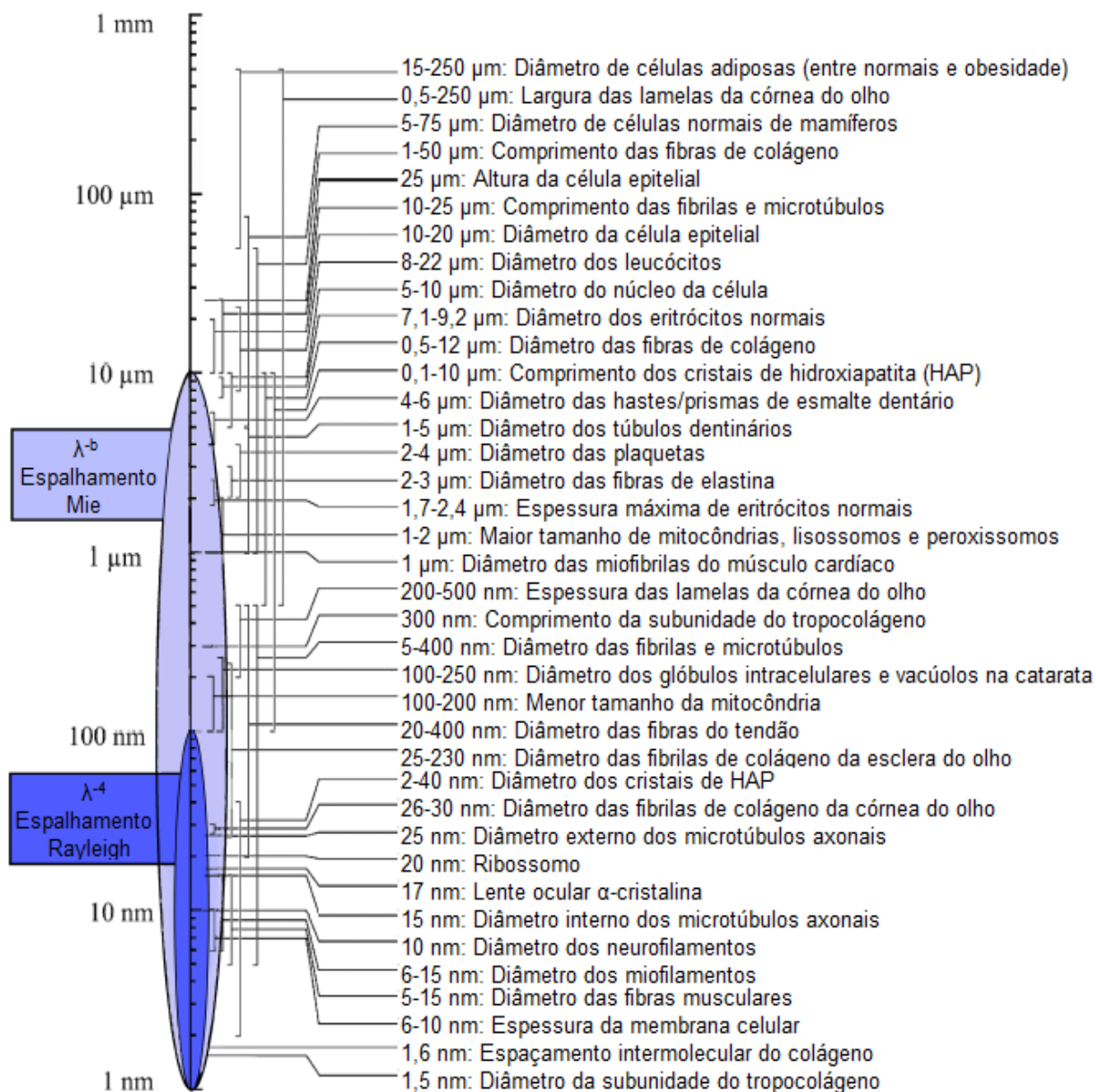
3.4.5 Espalhamento de luz no tecido biológico

O espalhamento da luz em tecidos biológicos depende do comprimento de onda da luz incidente, da relação entre o índice de refração da partícula e do meio em que ela se encontra, do tamanho e morfologia das partículas espalhadoras. Além disso, deve-se levar em conta que o espalhamento de luz em meios com grandes números de partículas espalhadoras é muito diferente de um espalhamento por uma partícula pontual (KULIKOV; KOSHLAN, 2018). Devido os tecidos biológicos serem formados por uma variedade de estruturas complexas, o desenvolvimento de modelos teóricos que possam descrever os fenômenos de absorção e espalhamento costuma ser a parte mais difícil do estudo (TUCHIN, 2015a).

Muitos tecidos possuem estruturas e componentes com dimensões variadas, conforme pode ser observado na Figura 17. Entretanto, para facilitar as análises, eles podem ser modelados como um sistema de partículas espalhadoras discretas. Normalmente, eles são modelados como meios compostos por partículas esféricas homogêneas, espalhadoras de luz e com índices de refração maior do que o ambiente onde se encontram (TUCHIN, 2015a; VARDAKI; KOURKOU MELIS, 2020).

Uma vez que as células, organelas e macromoléculas biológicas possuem morfologia aproximadamente esférica, esferoide ou elipsoide, tecidos compostos por elas podem ser simulados utilizando fantasmas. Os fantasmas (ou, em inglês, *phantoms*) são estruturas artificiais projetadas para emular propriedades de tecidos biológicos e são muito úteis em estudos envolvendo simulações. O sistema mais simples de simular é o composto por partículas esféricas não interagentes entre si (TUCHIN, 2015a; VARDAKI; KOURKOU MELIS, 2020).

Figura 17 – Tipos de espalhamento de luz e dimensões de algumas estruturas e componentes de tecidos biológicos. Adaptado de Tuchin 2015a.



A combinação das teorias de espalhamentos Rayleigh e Mie são as ferramentas básicas para calcular as propriedades ópticas dos tecidos biológicos. Entretanto, como a maioria dos tecidos são grandes espalhadores de luz, espalhamentos múltiplos ocorrem quando a luz penetra neles. Graças a isso, a aplicação direta das teorias de Rayleigh e Mie se tornam inviáveis. Portanto, em vez da aplicação direta, a descrição das propriedades ópticas destes sistemas costuma ser descrita pela Teoria de Transferência Radiativa (RTT, do inglês *Radiative Transfer Theory*) (TUCHIN, 2015a; VO-DINH, 2015).

A equação fundamental que descreve a RTT é a Equação de Transferência Radiativa (RTE, do inglês *Radiative Transfer Equation*). Esta equação também é

conhecida como equação de Boltzmann e descreve o fluxo de partículas (neste caso, fótons) em um elemento de volume (TUCHIN, 2015a; VO-DINH, 2015; WELCH; GEMERT, 2011). Ela está relacionada ao gradiente da taxa de fluência (φ), que representa a densidade de fluxo de luz incidente de todas as direções em uma pequena superfície dividida pela área dessa superfície, na posição (r) e direção $\hat{s}$, devido a fenômenos de absorção e espalhamento, e a um ganho, devido a fenômenos de espalhamento, em que a luz é espalhada de uma direção $\hat{s}'$ para a direção $\hat{s}$. Sua forma estacionária, ignorando estado de polarização da luz incidente, pode ser representada por meio da Equação 24,

$$\hat{s} \cdot \nabla \varphi(r, \hat{s}) + \mu_t(r) \varphi(r, \hat{s}) = \mu_s(r) \int p(\hat{s}, \hat{s}') \varphi(r, \hat{s}') d\omega' + q(r, \hat{s}), \quad (24)$$

no qual, $\mu_t = \mu_a + \mu_s$ é o coeficiente de atenuação total, $p(\hat{s}, \hat{s}')$ é a função de espalhamento (ou função de fase), $d\omega$ simboliza um elemento de ângulo sólido (escalar) em relação a direção $\hat{s}$ e $q(r, \hat{s})$ é o termo representando a fonte de luz (WELCH; GEMERT, 2011).

3.5 FANTOMAS ÓPTICOS

3.5.1 Introdução à fantasmas ópticos

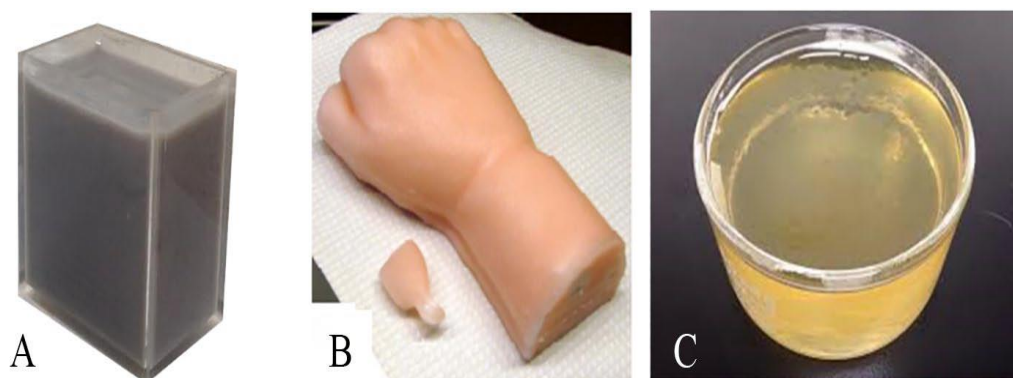
O uso de tecidos biológicos ou materiais semelhantes a eles é muito importante na padronização e desenvolvimento de técnicas espectroscópicas e outras aplicações ópticas. Entretanto, por razões éticas, a disponibilização de amostras biológicas é bastante restrita. Portanto, é comum a utilização de materiais sintéticos que simulem as propriedades destes tecidos. Estes materiais são chamados de fantasmas de tecido ou, em inglês, *tissue phantoms* (NTOMBELA; ADELEYE; CHETTY, 2020; VARDAKI; KOURKOUMELIS, 2020).

Os fantasmas são essenciais para aplicações espectroscópicas, uma vez que proporcionam viabilidade e reprodutibilidade em testes. Além disso, eles ajudam na otimização, padronização e calibração de equipamentos e técnicas. Por estes motivos, eles são muito importantes no estudo de propriedades ópticas de tecidos biológicos e na descrição de como a luz propaga neles (NTOMBELA; ADELEYE; CHETTY, 2020; VARDAKI; KOURKOUMELIS, 2020).

Estruturalmente, os fantasmas são matrizes difusas com composição, geometria e propriedades ópticas variadas. Eles podem ser fabricados de diversas

maneiras, mas normalmente são divididos em três categorias: a) líquidos; b) sólidos; e c) gel. Ilustrações destes três tipos de fantasmas estão apresentados na Figura 18. Durante o processo de fabricação, as propriedades ópticas (absorção e espalhamento, por exemplo) destes materiais podem ser modeladas para atender especificações desejadas. Isto é feito, por exemplo, controlando a quantidade de materiais absorvedores e espalhadores inseridos na matriz (NTOMBELA; ADELEYE; CHETTY, 2020; VARDAKI; KOURKOUMELIS, 2020).

Figura 18 - Ilustrações de fantasmas de tecido: (A) fantoma líquido, (B) fantoma sólido e (C) fantoma em gel. Adaptado de Vardaki e Kourkoumelis 2020.



Os fantasmas líquidos são mais simples de preparar. Entretanto, eles não podem ser utilizados em aplicações de complexidade mais realista. Para a fabricação de fantasmas sólidos é necessário um tempo de fabricação muito extenso, em relação as outras categorias. E, uma vez que eles estão prontos, é quase impossível mudar suas propriedades por meio da adição ou remoção de algum de seus componentes. Os fantasmas em gel possuem um solvente em sua composição, que evapora com o tempo. Quando isto acontece, as dimensões e propriedades ópticas do material também mudam (TUCHIN, 2015c; VARDAKI; KOURKOUMELIS, 2020).

3.5.2 Produção de fantasmas

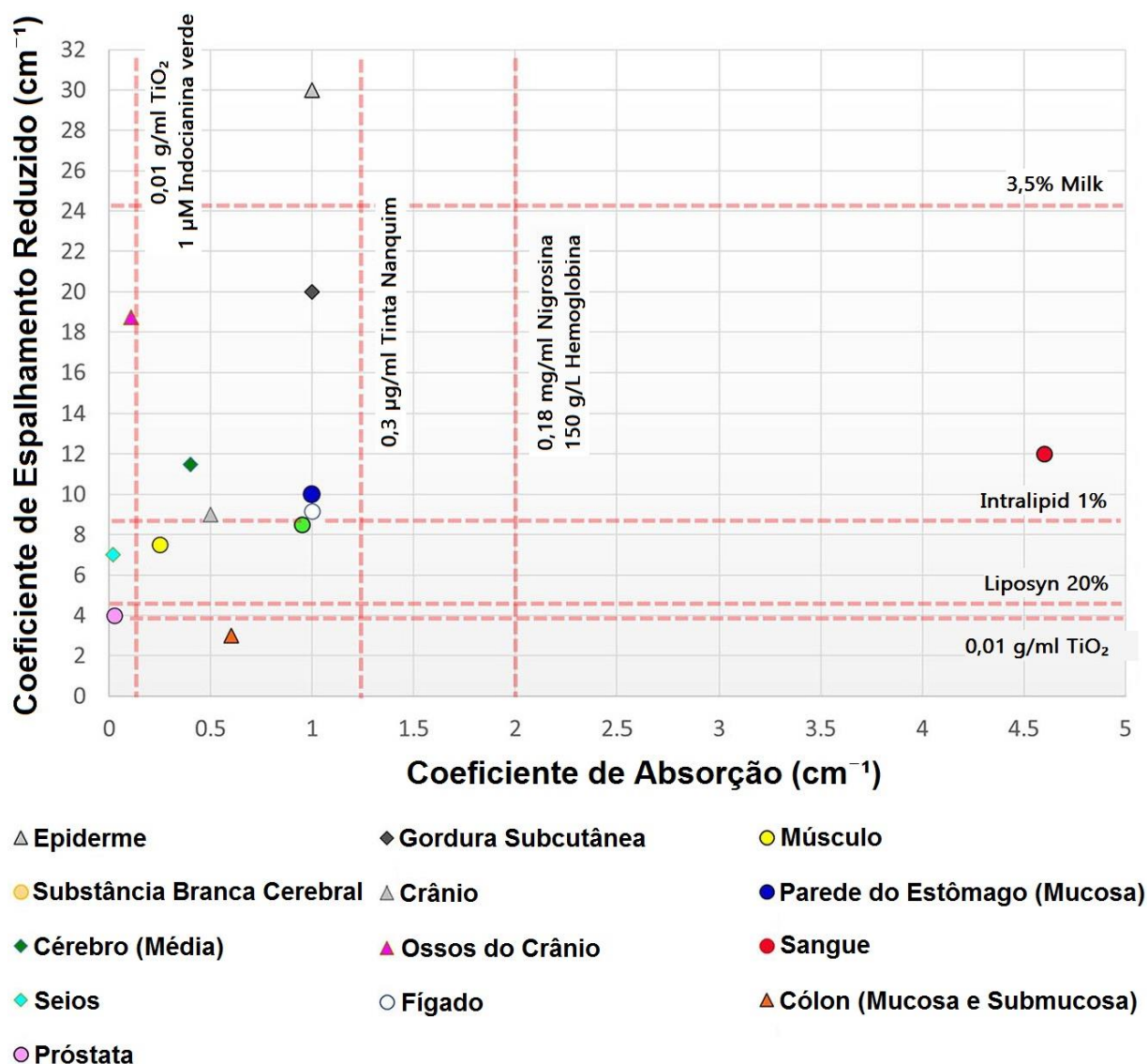
Em geral, os fantasmas ópticos são produzidos misturando um material espalhador de luz, um absorvedor e um diluente (ou matriz difusa). Todos estes constituintes são adicionados e misturados em concentrações específicas preestabelecidas. O resultado é uma suspensão que simula as propriedades ópticas intrínsecas de um tecido biológico. As propriedades ópticas incluem: coeficiente de absorção (μ_a), coeficiente de espalhamento (μ_s) e fator anisotrópico (g) (TUCHIN, 2015c; VARDAKI; KOURKOUMELIS, 2020).

Normalmente, as matrizes mais utilizadas são água, gelatina, ágar, géis de álcool polivinílico, borrachas de silicone, resinas de poliéster, epóxi e poliuretano. Os fantasmas feitos de água e géis são mais macios e proporcionam um meio que é biologicamente e quimicamente compatível com moléculas orgânicas. Os fantasmas feitos de polímeros, em comparação aos mencionados anteriormente, são mais estáveis quando expostos ao meio ambiente e preservam suas propriedades ópticas por mais tempo. Por esse motivo, são adequados para testes, calibração, padronização e otimização de equipamentos e técnicas ópticas (TUCHIN, 2015c; VARDAKI; KOURKOUMELIS, 2020).

Os materiais mais utilizados como agentes espalhadores de luz são: emulsões lipídicas, microesferas de polímeros, dióxido de titânio (TiO_2) e óxidos de alumínio. Dentre os agentes absorvedores de luz mais utilizados, estão: tinta nanquim, tinta preta, tinta vermelha, corante azul, corante verde naftol, nigrosina e indocianina verde. Além destes, também são utilizados absorvedores biológicos, como, por exemplo: hemoglobina, betacaroteno e melanina. Como foi mencionado anteriormente, as propriedades ópticas desejadas no fantoma são alcançadas misturando os seus constituintes em proporções específicas de matriz, agente absorvedor e espalhador (TUCHIN, 2015c; VARDAKI; KOURKOUMELIS, 2020).

No estudo conduzido por Vardaki e Kourkouvelis, foi realizada uma revisão de literatura abordando as concentrações típicas de agentes espalhadores e absorvedores frequentemente utilizados na produção de fantasmas de tecido, relacionando-os com as propriedades ópticas de tecidos humanos reais. Os coeficientes de espalhamento reduzido e absorção foram baseados em dados experimentais obtidos de tecidos humanos saudáveis, analisados no comprimento de onda de 830 nm. Os dados compilados por Vardaki e Kourkouvelis estão apresentados na Figura 19 (VARDAKI; KOURKOUMELIS, 2020). Dentre estes dados, foram reunidas informações sobre diversos tecidos, como epiderme, substância branca cerebral, cérebro, seios, próstata, gordura subcutânea, crânio, ossos do crânio, fígado, músculo, parede do estômago (mucosa), sangue e cólon (mucosa e submucosa). Além disso, o estudo incluiu informações sobre as propriedades ópticas de diferentes agentes espalhadores e absorvedores, como nigrosina, TiO_2 , leite, Liposyn, hemoglobina, indocianina verde, Intralipid e tinta nanquim, obtidas a partir de fontes bibliográficas.

Figura 19 - Concentrações típicas de agentes espalhadores e absorvedores frequentemente utilizados na fabricação de fantasmas de tecido, em comparação com as propriedades ópticas de tecidos humanos reais, analisados no comprimento de onda de 830 nm. Adaptado de Vardaki e Kourkouvelis 2020.



Como foi mencionado anteriormente, a combinação de agentes espalhadores e absorvedores em proporções específicas permite a criação de fantasmas com propriedades ópticas desejáveis. Essa estratégia é fundamental na obtenção de simuladores que reproduzam fielmente características ópticas de tecidos reais, possibilitando assim a realização de estudos e experimentos com maior precisão e relevância. Essa fidelidade é necessária pois eles são utilizados em processos de validação de modelos utilizados em pesquisas (VARDAKI; KOURKOUMELIS, 2020).

Um bom fantoma óptico possui as seguintes características: 1) modela os parâmetros geométricos e ópticos que são relevantes para o transporte de luz; 2) os

componentes devem ser compatíveis uns com os outros, em relação a estabilidade química e espectroscópica; 3) os parâmetros ópticos utilizados na Teoria de Transferência Radiativa (RTT) devem ser reproduzíveis e previsíveis, em relação a composição dos constituintes; 4) os parâmetros físicos devem ser estáveis em relação ao tempo e ao ambiente onde se encontram; 5) permite a construção de amostras não homogêneas (túrbidas) por meio do empilhamento de fantasmas em camadas; 6) permite a utilização de diferentes técnicas de modelagem; e 7) a preparação deve ser a mais simples, segura e rápida possível (TUCHIN, 2015c).

3.6 IMAGEM NO DOMÍNIO DA FREQUÊNCIA ESPACIAL

3.6.1 Resolução espacial

Um requisito importante para detectores de imagem sensíveis à posição é que eles sejam capazes de distinguir a intensidade de luz entre dois pontos separados espacialmente. A dependência entre a distância desses pontos e quão fielmente o detector é capaz de registrar separadamente as intensidades de radiação provenientes deles, determina qual é a resolução do sistema. A resolução da posição é um critério crucial para caracterizar a utilidade de um sistema de detecção para uma determinada aplicação (AHMED, 2015).

A maioria dos detectores modernos sensíveis à posição consistem em uma longa cadeia de pequenos detectores espaçados em intervalos muito pequenos. A resolução espacial de tais detectores depende de cada detector individual e da distância entre eles. Uma função típica destes tipos de detectores é que eles podem ser utilizados em sistemas ópticos para formação de imagens (AHMED, 2015).

Uma desvantagem desses sistemas ópticos é que, não importa quão preciso eles sejam, sempre haverá alguma diferença entre o objeto analisado e a imagem formada dele. O motivo desta diferença ocorre devido a forma como os detectores de imagem são construídos. A maioria dos sistemas modernos são formados por um grande número de pequenos sensores chamados de pixels. Estes pixels são montados bem próximos, formando uma matriz de detectores. Cada um deles é capaz de registrar intensidades de radiação incidente e, em um sistema ideal, não deveria haver nenhuma discrepância na imagem formada se eles fossem pequenos o suficiente e colocados o mais próximo possível um do outro (AHMED, 2015).

Existem dois efeitos distintos que causam a ocorrência de degradação da resolução espacial da imagem formada. Um deles é a diafonia (ou *crosstalk*) e o outro é o *aliasing*. A diafonia é um termo originado da eletrônica e se refere a interferência indesejada que um sinal elétrico pode causar em dispositivos e linhas de sinais. Como os sistemas de imagem e os detectores são formados por grandes números de detectores individuais, é possível que parte do sinal recebido em um detector possa ser transferido aos sensores vizinhos (AHMED, 2015).

O *aliasing* é um efeito que causa o aparecimento de um borrado nas imagens. Isso ocorre porque a imagem adquire informação extra que o objeto original não possuía. Esta informação adicional (e indesejada) é formada artificialmente durante o processo errado de amostragem (*sampling*) e reconstrução da imagem. A amostragem é o termo usado para caracterizar o processo de obtenção de informação espacial em tempos regulares e convertê-las de um sinal analógico para um sinal digital. A maioria dos sistemas ópticos modernos geram imagens digitais de um objeto por meio da amostragem de informação analógica (AHMED, 2015).

Para os sistemas ópticos que realizam somente amostragem espacial, a imagem é formada apenas em um ponto para cada intervalo de tempo. Um exemplo comum são as câmeras digitais que amostram e armazenam informação através de um dispositivo de carga acoplada (CCD, do inglês *charge-coupled device*). Na maioria dos sistemas ópticos voltados para a medicina, tanto a amostragem temporal quanto a espacial são realizadas simultaneamente para preservar e reconstruir o maior número possível de detalhes de um objeto (AHMED, 2015).

Para entender como o processo de amostragem espacial pode causar *aliasing* na imagem de um objeto, é necessário entender que, em geral, os objetos em si apresentam algumas frequências espaciais definidas. Em outras palavras, existem tons na imagem que ocorrem em diferentes intervalos espaciais. Em geral, a variação espacial dos tons na imagem é bastante irregular e possui diferentes frequências espaciais (AHMED, 2015).

Se a intenção é recriar uma imagem de um objeto usando uma matriz de detectores, é preciso saber o número de pixels por unidade de distância necessário para criar uma imagem com qualidade desejável. Esse número representa a frequência de amostragem da matriz de detectores. De modo intuitivo, podemos imaginar que a frequência de amostragem deve ser maior que a frequência espacial máxima dos tons que ocorrem na imagem. E, na verdade, a frequência de

amostragem deve ser pelo menos duas vezes maior que frequência espacial máxima. Essa afirmação é conhecida como teorema de amostragem (AHMED, 2015).

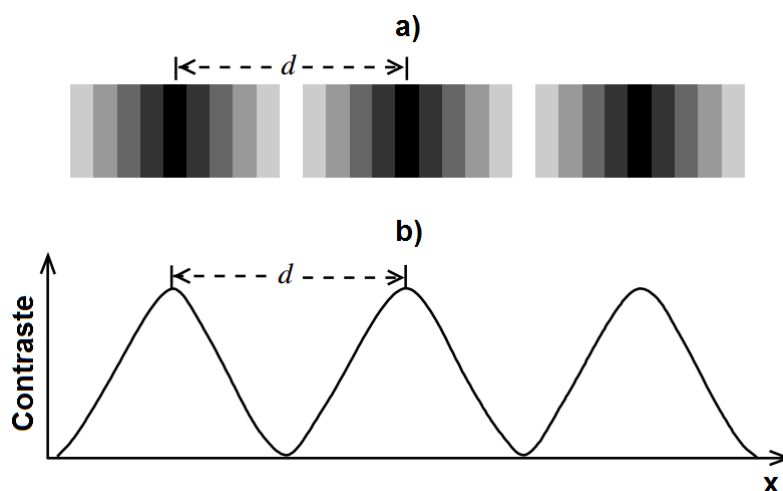
Segundo o teorema de amostragem, uma imagem pode ser fielmente reconstruída se e somente se a frequência de amostragem for maior ou igual duas vezes a largura de banda do sinal de entrada. Matematicamente, essa afirmação pode ser representada pela Equação 25,

$$f_s \geq 2B, \quad (25)$$

no qual, f_s é a frequência de amostragem e B é a largura de banda do sinal de entrada. Às vezes, $2B$ é referido como frequência de Nyquist (f_{Nyq}) e podemos dizer que uma imagem não será fielmente reconstruída se $f_s < f_{Nyq}$ (AHMED, 2015).

Normalmente, frequência de Nyquist é descrita como o número de pares de linhas por milímetro (lp/mm) (ou seja, uma linha preta e uma branca) ou ciclos por milímetro (ciclos/mm). Lembrando que apenas frequências abaixo desse valor que conseguem ser detectadas fielmente pelo sistema. Para entender como uma frequência de amostragem menor que a frequência de Nyquist pode causar *aliasing*, primeiro é necessário entender que podemos representar uma imagem unidimensional possuindo tons periódicos, como a apresentada na Figura 20a, como uma função seno (Figura 20b) (AHMED, 2015).

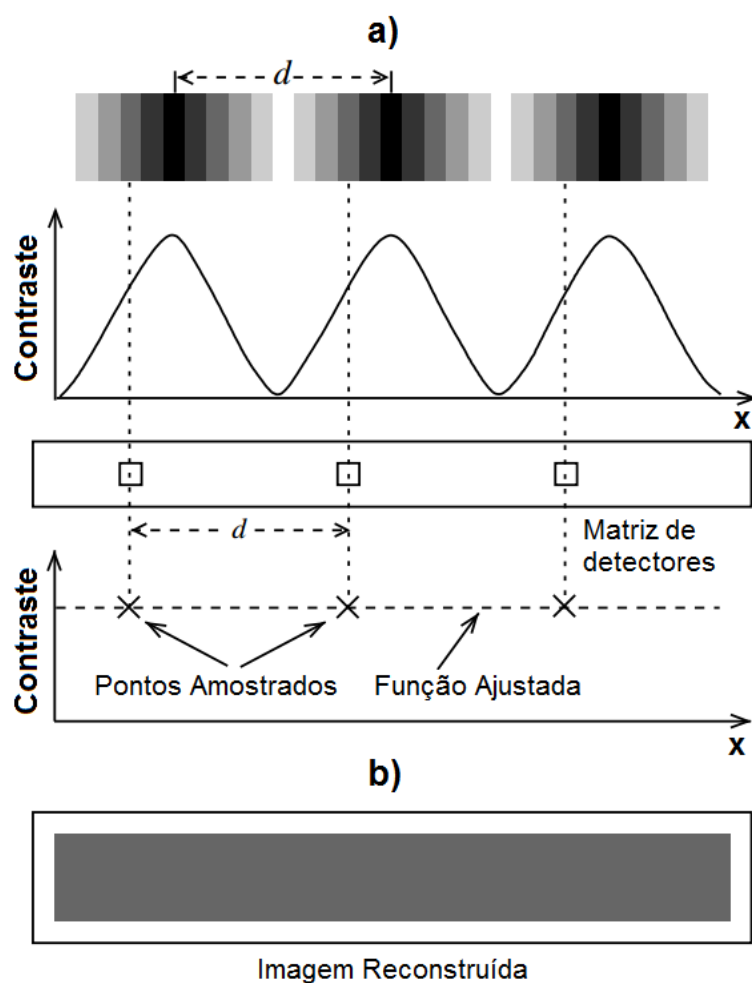
Figura 20 – a) Os tons apresentados na imagem do objeto podem ser descritos por uma função seno, como demonstrado em b). É importante destacar que, ao contrário do que a figura ilustra, devemos assumir que os tons são distribuídos continuamente e não possuem fronteiras definidas. Adaptado de Ahmed 2015.



Para o caso apresentado na Figura 20, se usarmos uma matriz de detectores com uma frequência espacial de amostragem igual a frequência da função seno, ou

seja, metade da frequência de Nyquist, os detectores seriam arranjados à uma distância d , um do outro. Uma representação esquemática deste arranjo está apresentada na Figura 21a. No caso deste padrão periódico, como o detector pode registrar informação apenas onde está localizado cada pixel, o contraste registrado será o mesmo em todos os pontos. Isso significa que a imagem reconstruída (Figura 21b) irá apresentar um único tom. Desta forma, podemos concluir que uma frequência de amostragem incorreta pode adicionar informação na imagem reconstruída que não estava no objeto original (AHMED, 2015).

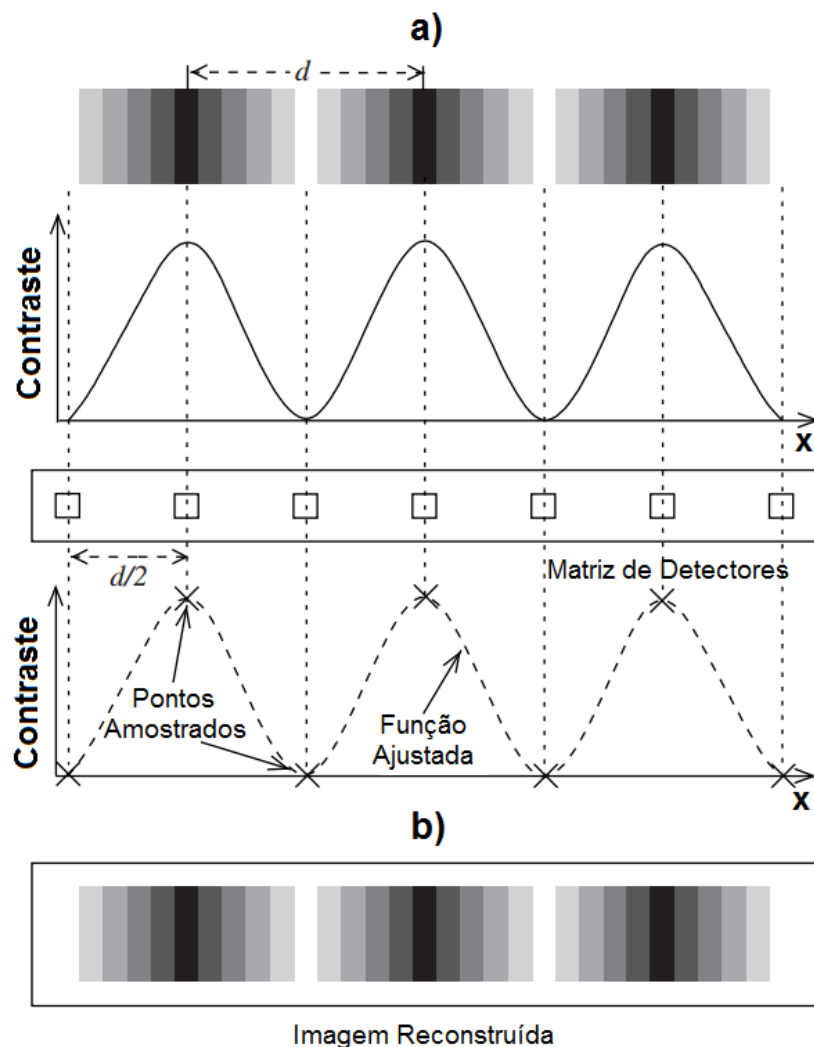
Figura 21 – a) Amostragem de uma imagem com frequência de Nyquist igual a $2/d$ e um arranjo de detectores com frequência espacial de amostragem igual a $1/d$ (neste caso, $f_s < f_{Nyq}$). b) Como os dados adquiridos possuem todos o mesmo contraste, a imagem reconstruída possui um único tom. Ou seja, a imagem reconstruída possui informação que não estava presente da imagem original. Adaptado de Ahmed 2015.



Como foi mencionado anteriormente, uma imagem pode ser fielmente reconstruída se e somente se a frequência de amostragem for maior ou igual duas vezes a largura de banda do sinal de entrada. Para tal sistema de detecção, os

detectores devem ser posicionados à uma distância de pelo menos $d/2$ um do outro, como apresentado esquematicamente na Figura 22. Por meio da Figura 22, é possível notar que esta frequência de amostragem melhora significativamente a qualidade da imagem reconstruída. Porém, é importante destacar que, como as imagens de objetos reais nem sempre são uniformes, amostragem em frequências espaciais maiores são geralmente preferíveis (AHMED, 2015).

Figura 22 – a) Amostragem de uma imagem com frequência de Nyquist igual a $2/d$ e um arranjo de detectores com frequência espacial de amostragem igual a $2/d$ (neste caso, $f_s = f_{Nyq}$). b) Como os dados adquiridos possuem contrastes diferentes, a imagem reconstruída é idêntica a imagem original e não possui borrões causados por *aliasing*. Adaptado de Ahmed 2015.

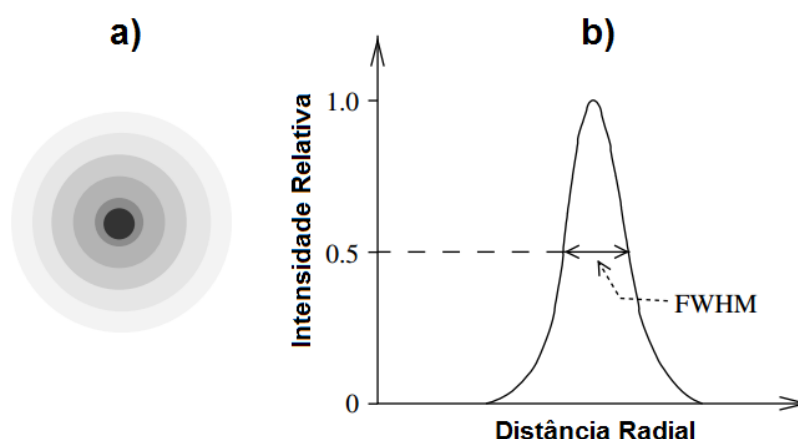


3.6.2 Função de Dispersão de Pontos

A Função de Dispersão de Pontos (PSF, do inglês *Point-Spread Function*) determina quão bem um detector é capaz de detectar e distinguir entre dois pontos separados por uma distância d no espaço. Supondo que existe um ponto perfeito e

que ele é registrado por um sistema óptico composto por muitos pixels, caso a radiação usada para criar a imagem seja monocromática e perpendicular à ambas as superfícies, então a imagem registrada apresentará um formato redondo. Esta imagem possuirá uma intensidade maior no centro e irá diminuir sua intensidade conforme a distância radial aumenta. Uma representação esquemática da imagem de um ponto, feita por um detector de pixels, está apresentada na Figura 23a (AHMED, 2015).

Figura 23 – a) Representação esquemática da imagem de um ponto, feita por um detector de pixels. Adaptado de Ahmed 2015.

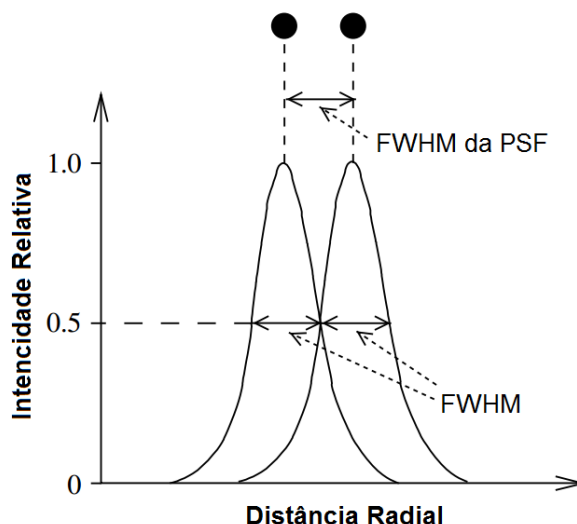


Como a imagem formada por um ponto em um sistema óptico é radialmente simétrica (Figura 23a), caso seja plotado um gráfico da intensidade da luz em relação a qualquer coordenada, ele apresentará uma distribuição gaussiana. Um gráfico representando esta relação está apresentado na Figura 23b. Esta distribuição gaussiana unidimensional que é chamada de PSF. É importante destacar que nem sempre essa distribuição será perfeitamente gaussiana, podendo aparecer um pouco distorcida (AHMED, 2015).

Para a maioria dos fins práticos, o formato da distribuição mencionada anteriormente não é muito importante, uma vez que podemos trabalhar com uma quantidade chamada de largura total à meia altura (FWHM, do inglês *full width at half maximum*), também representado esquematicamente na Figura 23b. Esta quantidade é importante porque, se a distância entre dois pontos proximamente espaçados for igual ou maior que a FWHM, o detector será capaz de distinguir entre cada um deles. Esta afirmação pode ser entendida por meio da Figura 24, na qual é apresentado as distribuições de dois pontos proximamente espaçados. Com isso,

podemos afirmar que a resolução espacial de um sistema óptico dependerá do valor da FWHM (AHMED, 2015).

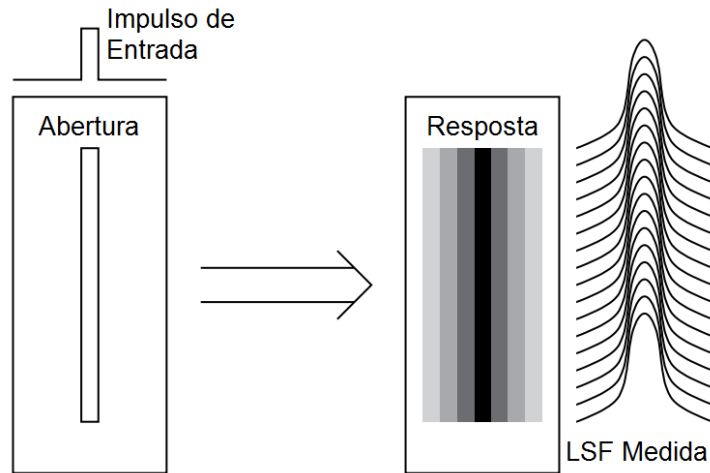
Figura 24 – Relação entre intensidade da luz em e a distância radial de dois pontos proximamente espaçados. Como a distância entre os dois pontos é igual a FWHM, o sistema de detecção é capaz de distinguir entre cada um deles. Com isso, a PSF pode ser utilizada para quantificar a resolução espacial de um detector de imagem. Adaptado de Ahmed 2015.



De forma semelhante a definição da PSF, podemos definir a Função de Dispersão de Linha (LSF, do inglês *Line Spread Function*), pois ela usa a mesma técnica para quantificar a resolução espacial. A diferença é que, neste caso, a imagem de uma linha ideal é utilizada em vez de um ponto, e a LSF é desenhada perpendicularmente através da imagem. Uma vez que uma linha pode ser considerada como sendo muitos pontos proximamente espaçados, a LSF produz um perfil de FWHMs, em vez de um único valor (AHMED, 2015).

Uma representação esquemática da LSF formada por uma linha fina está apresentada na Figura 25. Por meio deste perfil, a resolução do sistema de medida pode ser deduzida em cada ponto. Apesar que a LSF é uma boa forma de medir a resolução do sistema, ela é muito difícil de ser determinada experimentalmente, pois é muito difícil criar um objeto que represente uma linha ideal (AHMED, 2015).

Figura 25 - Representação esquemática da imagem formada por uma linha fina. A LSF da linha pode ser entendida como um grande número de PSFs de pontos proximamente espaçados. Adaptado de Ahmed 2015.



3.6.3 Função de Transferência de Modulação

A Função de Transferência de Modulação (MTF, do inglês *Modulation Transfer Function*) representa a resposta de magnitude de um sistema óptico de medida à padrões sinusoidais de diferentes frequências espaciais. Em outras palavras, a MTF caracteriza quão fielmente um sistema óptico de medida é capaz de registrar imagens com diferentes frequências espaciais em um objeto. Isso serve para determinar quanto contraste do objeto original é mantido pelo detector (AHMED, 2015; BOREMAN, 2021).

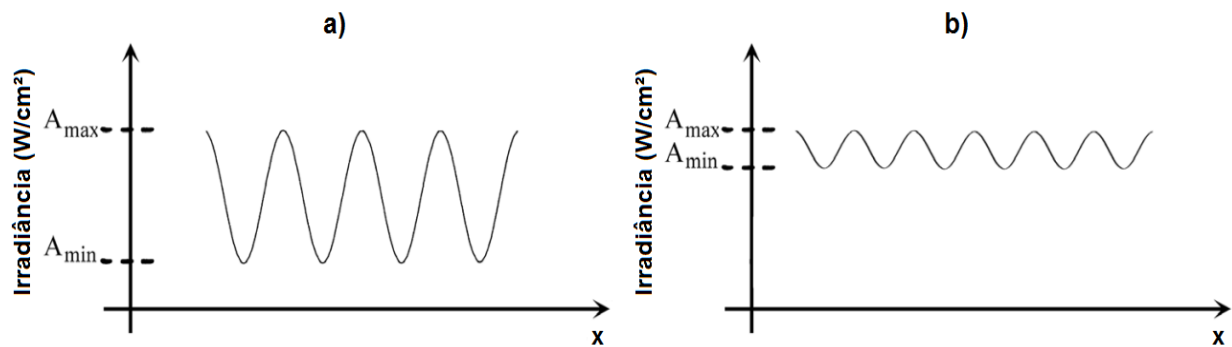
Como foi discutido anteriormente, a variação espacial do contraste de uma imagem pode ser representada como funções seno possuindo diferentes frequências. Na Figura 26 estão apresentadas duas representações gráficas de uma função seno com diferentes frequências e amplitudes. Nelas, $A_{\max}$ representa a amplitude máxima e $A_{\min}$ a amplitude mínima do sinal obtido no detector. Como o contraste é definido em termos da quantidade de luz que é medida no detector, um gráfico desse tipo sempre permanecerá com valor positivo em todos os pontos espaciais (AHMED, 2015; BOREMAN, 2021).

Podemos definir a modulação (M) como sendo a razão entre variação da amplitude de irradiância e o nível de viés, ou seja, ela pode ser representada conforme apresentado na Equação 26,

$$M = \frac{A_{\max} - A_{\min}}{A_{\max} + A_{\min}}. \quad (26)$$

A princípio, a modulação pode assumir valores entre 0 e 1, apesar de valores muito próximos de 1 serem muito difíceis de se obter. Como podemos observar na Figura 26 e na Equação 26, a modulação é uma medida de contraste e, conforme a variação da amplitude de irradiância tende a zero, a modulação (contraste) também tende a zero e, conforme ela tende a um, a modulação tende ao seu valor máximo (AHMED, 2015; BOREMAN, 2021).

Figura 26 - A variação espacial do contraste de uma imagem pode ser representada por uma função seno. Na figura, $A_{\max}$ representa a amplitude máxima do sinal obtido no detector e $A_{\min}$ a amplitude mínima. Entre estes gráficos, a) possui um contraste alto e b) possui um contraste baixo. Adaptado de Boreman 2021.



Outro fator importante é que a resolução espacial limitada de um sistema óptico tende a provocar uma diminuição (ou atenuação) da modulação da imagem em relação ao que era apresentado na distribuição do objeto original. Este fenômeno pode ser observado na representação esquemática apresentada na Figura 27. Além disso, a extensão espacial finita da resposta do impulso do sistema óptico faz com que ocorra um preenchimento dos vales e um abaixamento dos picos da senoide que representa a variação espacial do contraste. Este efeito também causa uma diminuição da modulação da imagem em relação ao objeto original (AHMED, 2015; BOREMAN, 2021).

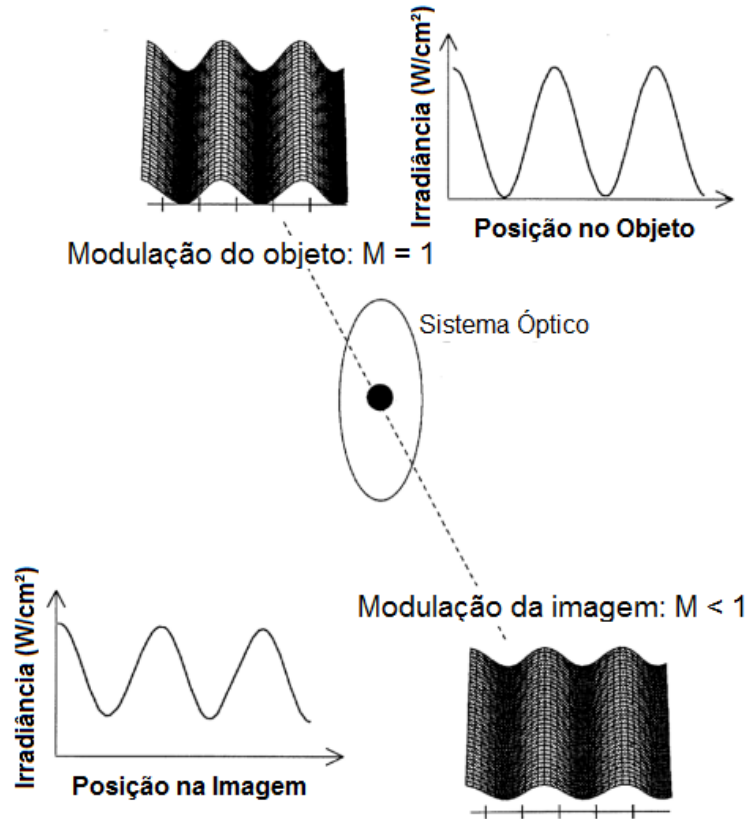
A razão entre a modulação da imagem (M_{im}) e a modulação do objeto (M_{obj}), é conhecida como transferência de modulação (MT, do inglês *modulation transfer*), e pode ser representada pela Equação 27,

$$MT = \frac{M_{\text{imagem}}}{M_{\text{objeto}}} \quad (27)$$

A MT é uma função que depende da frequência espacial e não pode ser usada para caracterizar a resposta do sistema óptico. Para essa finalidade, é necessário calcular a MT em cada frequência espacial. A dependência da MT em relação à cada frequência espacial é chamada de Função de Transferência de

Modulação (MTF). A MTF pode ser obtida plotando um gráfico da MT em relação a frequência espacial, como representado na Figura 28 (AHMED, 2015; BOREMAN, 2021).

Figura 27 - Diminuição (ou atenuação) da modulação da imagem, em relação ao que era apresentado na distribuição do objeto original. Adaptado de Boreman 2021.



Como a MTF caracteriza quão bem o contraste de um objeto é transferido para uma imagem, ela está diretamente ligada a Função de Dispersão de Linha (LSF). Na realidade, a MTF pode ser definida como a transformada de Fourier (FT, do inglês *Fourier transform*) da função LSF e, portanto, pode ser representada pela Equação 28,

$$MTF(v) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{\infty} LSF(x) e^{i2\pi vx} dx, \quad (28)$$

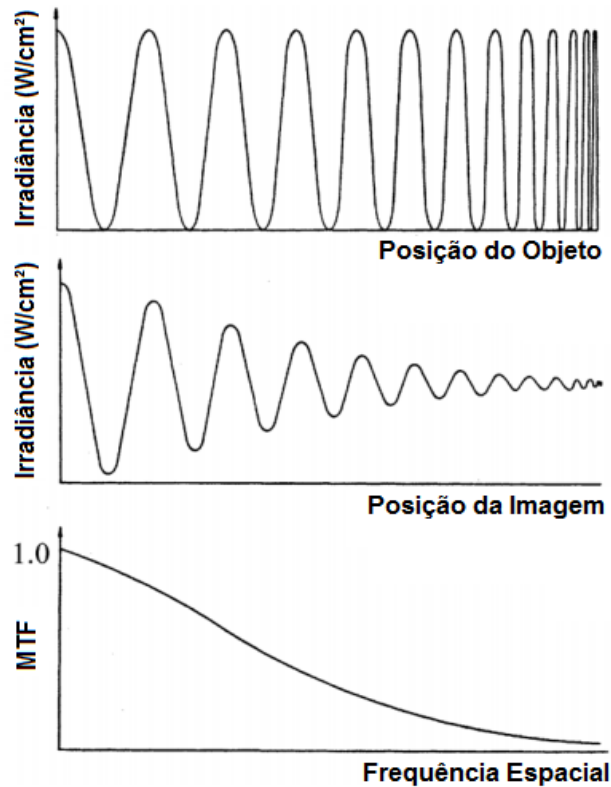
no qual, v é a frequência espacial e x é a distância espacial (AHMED, 2015).

A transformada de Fourier muda a função LSF do domínio espacial para o domínio da frequência. Uma vantagem de usar a MTF para caracterizar a resolução do contraste de um sistema óptico está no fato de que cada componente do sistema possui sua própria MTF, e a MTF total do sistema (MTF_{sis}) pode ser obtida simplesmente multiplicando a contribuição de cada componente. Ou seja, podemos representar a MTF_{sis} por meio da Equação 29,

$$MTF_{\text{sis}} = \prod_i MTF_i, \quad (29)$$

no qual, MTF_i representa a MTF de cada componente individual do sistema (AHMED, 2015).

Figura 28 – A MTF representa o declínio da modulação em relação ao aumento da frequência espacial. Neste caso, a modulação do objeto é constante e a modulação da imagem varia de acordo com a frequência espacial. Adaptado de Boreman 2021.



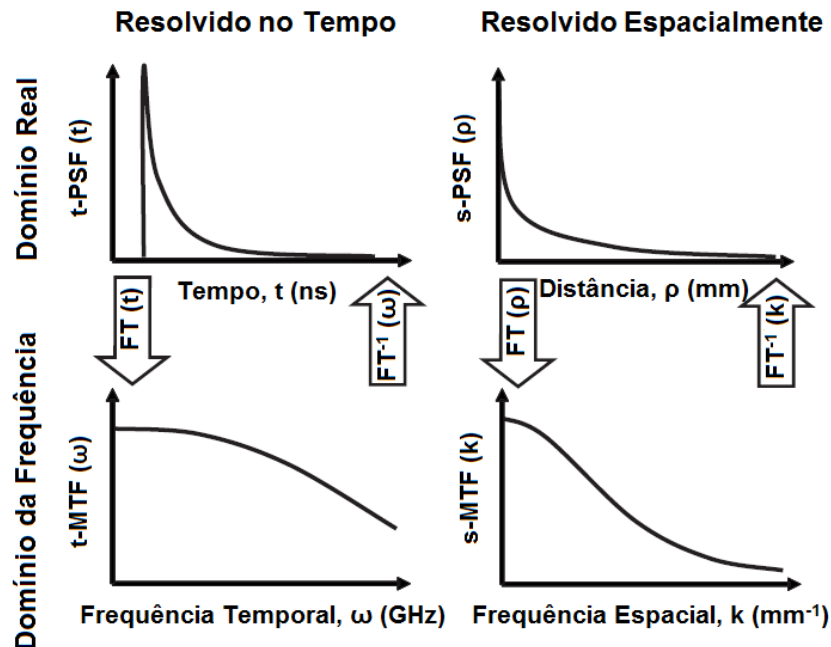
3.6.4 Introdução à Imagem no Domínio da Frequência Espacial

Na área de óptica biomédica, o processo de análise de tecidos e fluidos biológicos é complexo devido à ocorrência de espalhamentos e absorções múltiplas. Para a realização da caracterização quantitativa destes meios de propagação, é necessário que a técnica utilizada tenha a capacidade de diferenciar absorção e espalhamento óptico por meio da análise da luz refletida ou transmitida pela amostra. Normalmente, a medição das propriedades ópticas dentro de meios túrbidos (como os tecidos biológicos) depende de uma técnica que analise o comportamento temporal ou espacial da propagação de fótons na amostra. A medição dessas propriedades é obtida por meio da resposta do meio túrbido em relação a luz incidente (CUCCIA et al., 2009; GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019).

A resposta pode ser obtida no domínio real, como a resposta obtida por um pulso de luz em relação ao tempo ou a um ponto no espaço, chamada de Função de Dispersão de Pontos (PSF) ou no domínio da frequência, com a atenuação e/ou atraso na fase de uma onda de densidade de fótons com iluminação periódica, tanto no domínio da frequência temporal quanto no da frequência espacial, chamado de Função de Transferência de Modulação (MTF) (CUCCIA et al., 2009; GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019).

Uma representação gráfica dos quatro domínios de medição utilizados na caracterização de meios túrbidos está apresentada na Figura 29. No canto superior esquerdo está representado o domínio temporal real. No canto inferior esquerdo o domínio da frequência temporal. No canto superior direito o domínio espacial real. E no canto inferior direito o domínio de frequência espacial (CUCCIA et al., 2009; GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019).

Figura 29 - Representação gráfica dos quatro domínios de medição para a caracterização de meios túrbidos. FT representa a transformada de Fourier da função. Adaptado de Cuccia et al. 2009.



Qualquer um dos quatro domínios pode ser utilizado para medir informações de profundidade e propriedades ópticas em meios túrbidos, e cada um possui suas vantagens e desvantagens. O método de obtenção de uma resposta óptica por meio da aplicação de um pulso de luz em função do tempo ($t\text{-PSF}$) é o que obtém informações ópticas mais ricas, pois este método expressa completamente as características da Equação de Transporte Radioativo dependente do tempo e pode separar melhor as propriedades ópticas em sistemas não homogêneos. Entretanto,

a extração de informações por meio desse modelo requer a utilização de modelos computacionais mais complexos e frequentemente possui taxas de obtenção de dados mais lentas e/ou instrumentação cara, em relação aos outros métodos (CUCCIA et al., 2009; GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019).

Uma alternativa para obtenção de informações ópticas é a utilização do método de propagação espacial da luz. Este método, em comparação aos outros, é relativamente direto, barato e depende de modelos computacionais menos complexos. Entretanto, medições realizadas no domínio espacial real fornecem dados com alta relação sinal-ruído (SNR, do inglês *signal-to-noise ratio*) e essa abordagem ainda possui a desvantagem de necessitar a realização de uma varredura pontual do objeto para gerar imagens com grandes campos de visão, tornando a aplicação impraticável em tempo real (CUCCIA et al., 2009; GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019).

O método de obtenção de informações ópticas por meio de medições no Domínio da Frequência Espacial (SFD, do inglês *Spatial Frequency Domain*) tem a vantagem de poder ser realizado com instrumentação barata, modelos computacionais menos complexos, em comparação aos outros métodos, e os sinais obtidos podem ser facilmente combinados em vários pixels, permitindo que imagens de proporções maiores até que 100 cm² sejam captadas de uma só vez, com rapidez e resolução espacial (CUCCIA et al., 2009; GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019).

Devido às suas capacidades únicas em fornecer imagens quantitativas rápidas e para uma ampla variedade de amostras biológicas, a Imagem no Domínio da Frequência Espacial (SFDI, do inglês *Spatial Frequency Domain Imaging*) tem atraído interesse crescente no campo da óptica biomédica (CHEN; DURR, 2020; GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019; ROWLAND et al., 2019; SAAGER et al., 2019; SAIDIAN et al., 2019; STEELMAN et al., 2019; TRAVERS et al., 2019).

3.6.5 Aproximação da Difusão

A aproximação da difusão, que é referente ao regime da difusão, para a Equação de Transporte Radioativo é utilizada para modelar a propagação da luz em meios túrbidos. Ela é capaz de fornecer soluções analíticas que podem ser facilmente implementadas em sistemas ópticos. Entretanto, essa aproximação não

pode ser aplicada à todas as escalas espaciais e para quantificação de qualquer propriedade óptica (GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019).

A equação de difusão independente do tempo pode ser escrita conforme representado na Equação 30,

$$\nabla^2 \varphi - \mu_{\text{ef}}^2 \varphi = -3\mu_{\text{tr}} q, \quad (30)$$

no qual, φ é a taxa de fluência, que representa a densidade de fluxo de luz incidente de todas as direções em uma pequena superfície dividida pela área dessa superfície, $\mu_{\text{tr}} = \mu_a + \mu_s'$ é o coeficiente de transporte, que representa a atenuação do fluxo de luz devido ao espalhamento e absorção dela pelo meio, $\mu_{\text{ef}} = \sqrt{3\mu_a\mu_{\text{tr}}}$ é o coeficiente de atenuação efetivo e $q = q_0(z)\cos(k_x x + \alpha)$ é o termo representando a fonte de luz. Na equação que descreve q , assumimos que a fonte de luz é modulada sinusoidalmente apenas na direção x , com a frequência espacial $f_x = (k_x/2\pi)$ e fase espacial α (CUCCIA et al., 2009).

Assumindo que o meio de propagação da iluminação com padrão sinusoidal (q) é linear, ou seja, que a resposta do meio é proporcional a intensidade da luz incidida, esse padrão de iluminação irá gerar uma taxa de fluência (φ) com a mesma frequência (f_x) e fase (α) da luz incidida. Considerando uma geometria semi-infinita, como ilustrado na Figura 30, não devem ocorrer mudanças de fase laterais para a luz incidida normal à superfície do meio. Neste caso, a taxa de fluência pode ser representada por meio da Equação 31 (CUCCIA et al., 2009),

$$\varphi = \varphi_0(z) \cos(k_x x + \alpha). \quad (31)$$

A partir da descrição da equação de difusão independente do tempo, podemos definir a refletância difusa (R_d), representada na Equação 32,

$$R_d = \frac{3Aa'}{(\mu'_{\text{ef}}/\mu_{\text{tr}} + 1)(\mu'_{\text{ef}}/\mu_{\text{tr}} + 3A)}, \quad (32)$$

no qual, $a' = \mu_s'/\mu_{\text{tr}}$ é o albedo reduzido, $\mu'_{\text{ef}} = \sqrt{(\mu_{\text{ef}}^2 + k_x^2)}$ é chamado de coeficiente de atenuação escalar e A é uma constante de proporcionalidade, representada pela Equação 33,

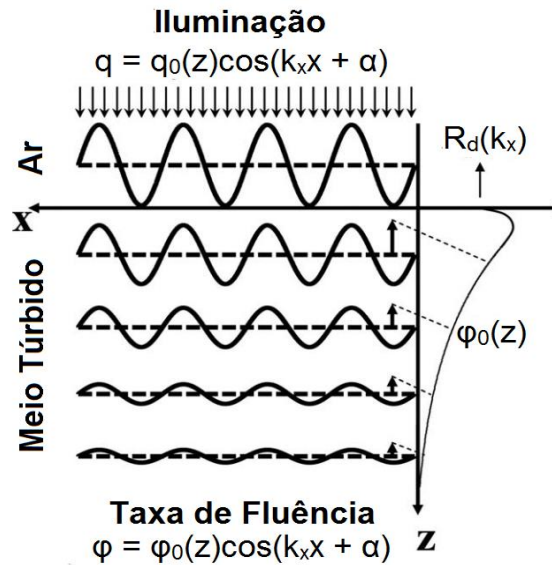
$$A = \frac{1 - R_{\text{ef}}}{2(1 + R_{\text{ef}})}, \quad (33)$$

no qual, R_{ef} é o coeficiente de reflexão efetivo, que é representado pela Equação 34,

$$R_{\text{ef}} \approx 0,0636n + 0,668 + \frac{0,710}{n} - \frac{1,440}{n^2}. \quad (34)$$

Na Equação 34, n corresponde ao índice de refração da amostra a ser analisada (CUCCIA et al., 2009; GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019).

Figura 30 – Representação esquemática de uma iluminação com padrão sinusoidal (q) incidido perpendicularmente à superfície de uma amostra túrbida. Esse padrão de iluminação gera uma taxa de fluência (φ) com a mesma frequência (f_x) e fase (α) da luz incidente. Adaptado de Cuccia et al. 2009.



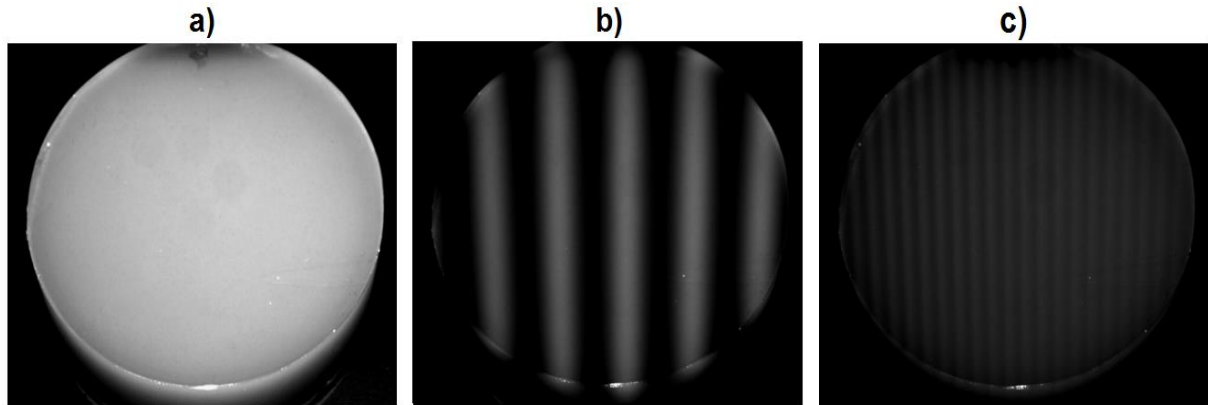
A refletância difusa (R_d) ocorre quando a luz que penetra em um meio túrbido sofre múltiplos espalhamentos no interior do material e sai pela superfície. A resolução da equação de refletância difusa pode ser relacionada com medição da modulação da amplitude da onda, levando em conta a resposta óptica do sistema, a fim de extrair separadamente os coeficientes de absorção (μ_a) e de espalhamento reduzido (μ_s') da amostra (CUCCIA et al., 2009; VO-DINH, 2015).

Analisando a Equação 32, é interessante notar a influência da frequência espacial da luz incidida na amostra, $f_x = k_x/2\pi$, na atenuação da onda de densidade de fótons. Quanto maior a frequência espacial, menos luz é refletida de forma difusa. Essa atenuação ocorre porque μ_{ef}' depende tanto das propriedades ópticas do meio quanto da frequência espacial da luz incidida. Conforme a frequência espacial da luz incidente na amostra aumenta, a atenuação da luz aumenta (CUCCIA et al., 2009; GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019).

Essa constatação é consistente com o fato de que, quando a luz incidente em uma amostra túrbida apresenta altas frequências espaciais, ela não se propaga bem nesse meio (CUCCIA et al., 2009; GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019). Esse fenômeno pode ser observado por meio da Figura 31, na qual é apresentado três fotografias obtidas da refletância difusa em uma amostra túrbida. Na superfície da

amostra foram projetados três padrões diferentes de iluminação sinusoidal, cada um com diferentes frequências espaciais (f_x), que são: 0, 0,1 e 0,4 mm^{-1} .

Figura 31 - Imagens da refletância difusa obtidas utilizando o dispositivo óptico SFDI, projetado e montado na UFU, em um fantoma de tecido. Neste caso, os padrões de iluminação sinusoidal possuem diferentes frequências espaciais (f_x), que são: a) 0 mm^{-1} ; b) 0,1 mm^{-1} e c) 0,4 mm^{-1} . Na figura é possível observar que, conforme a frequência espacial da luz incidente na amostra aumenta, a atenuação da luz também aumenta. Ou seja, menos luz é refletida de forma difusa.



É importante ressaltar que o uso da aproximação da difusão se limita a aplicação de padrões de frequência espacial da luz incidente muito menores que o coeficiente de transporte, conforme representado na Equação 35,

$$f_x \ll \mu_{tr} = \frac{1}{l_{tr}}. \quad (35)$$

no qual, l_{tr} é o caminho livre médio de transporte (CUCCIA et al., 2009).

3.7 REDES NEURAIS ARTIFICIAIS

3.7.1 Aprendizado de máquina

Resumidamente, o aprendizado de máquina, conhecido em inglês como *machine learning*, é uma técnica de modelagem que utiliza dados. Seu objetivo é descobrir o "modelo" que melhor descreve determinados conjuntos de "dados". Esses dados podem abranger informações como documentos, áudio, imagens e outros (DEPREZ; ROBINSON, 2022; KIM, 2017).

O próprio nome da técnica reflete o fato de que ela analisa os dados fornecidos e identifica o modelo que os descreve, sem depender da intervenção humana. Essa abordagem é conhecida como "aprendizado" porque se assemelha ao treinamento de uma pessoa com dados específicos, visando resolver o problema de encontrar o modelo mais adequado para descrever esses dados. Dessa forma,

os dados utilizados no processo de modelagem do aprendizado de máquina são chamados de "dados de treinamento" (DEPREZ; ROBINSON, 2022; KIM, 2017).

Nessa técnica, o termo "modelo" representa o resultado que almejamos atingir. Por exemplo, ao desenvolvermos um sistema de filtragem automática para remover e-mails de spam, o filtro de e-mails indesejados é o modelo em questão. Dessa forma, o modelo é a entidade que efetivamente utilizamos e implementamos para cumprir determinada tarefa ou objetivo (KIM, 2017).

O aprendizado de máquina não é a única abordagem de modelagem existente. Na área da dinâmica, por exemplo, que é o ramo da mecânica clássica que investiga as forças que afetam o movimento de sistemas e seus efeitos, há muito tempo se utiliza uma técnica de modelagem específica. Essa técnica envolve a aplicação das leis de Newton para descrever o movimento de objetos por meio de um conjunto de equações conhecidas como equações de movimento (KIM, 2017).

No entanto, há áreas em que as leis e o raciocínio lógico não são tão eficazes para a modelagem. Isso se torna evidente em problemas que envolvem identificar e distinguir diferentes padrões, como reconhecimento de imagem, reconhecimento de fala e processamento de linguagem natural. Nessas situações, o aprendizado de máquina surge como uma solução, especialmente quando modelos analíticos tradicionais são escassos. A ideia central do aprendizado de máquina é construir um modelo utilizando dados de treinamento quando equações e leis não são viáveis ou promissoras (KIM, 2017).

Com o aumento exponencial do poder computacional e da disponibilidade de dados, o aprendizado de máquina ganhou um impulso renovado nas últimas décadas. Na área biomédica, as técnicas de aprendizado de máquina têm um potencial considerável para promover avanços tecnológicos, apoiando e melhorando o diagnóstico, o prognóstico e o planejamento de tratamentos. Isso é crucial, pois os sistemas de saúde atuais enfrentam um número crescente de pacientes e volumes de dados (DEPREZ; ROBINSON, 2022; JOVEL; GREINER, 2021).

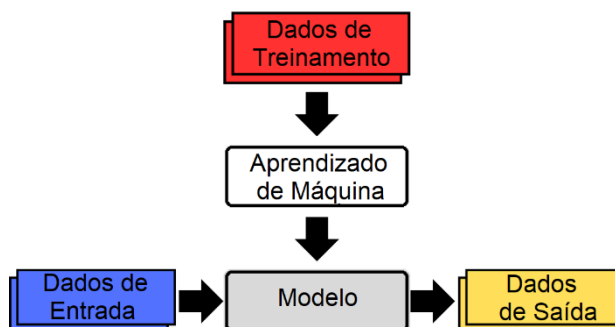
Além disso, a complexa correspondência entre padrões provenientes de diversas fontes de dados, incluindo amostras de tecidos e sangue, registros clínicos, genética e dados de imagem, tem o potencial de melhorar o diagnóstico de doenças ou quadros clínicos, ajudar a compreender como as doenças se manifestam e seus mecanismos biológicos, conduzindo potencialmente a novos e melhores tratamentos. A aplicação de abordagens modernas de aprendizado de máquina

estende-se a muitas áreas da investigação biomédica, desde a análise de imagens clínicas, estratificação de pacientes para intervenções terapêuticas, criação de novos medicamentos, robótica, entre outros (DEPREZ; ROBINSON, 2022; JOVEL; GREINER, 2021).

3.7.2 Desafios no uso do aprendizado de máquina

Após o processo de aprendizado de máquina gerar um modelo a partir dos dados de treinamento, é necessário aplicar esse modelo em dados do mundo real. Os passos necessários para a criação de um modelo de aprendizado de máquina a partir de dados conhecidos estão ilustrados no fluxograma apresentado na Figura 32. Nela, o fluxo vertical representa o processo de aprendizagem, enquanto o fluxo horizontal representa a inferência realizada pelo modelo treinado. A inferência consiste na operação em que se afirma a veracidade de uma proposição com base em sua conexão com outras proposições já reconhecidas como verdadeiras. Em outras palavras, o modelo, após ser construído com dados conhecidos, é testado com dados reais para verificar sua eficácia (KIM, 2017).

Figura 32 - Fluxograma representando os passos verticais para a construção de um modelo a partir de dados conhecidos (processo de aprendizagem) e os passos horizontais para testar o modelo utilizando dados reais (inferência). Adaptado de Kim 2017.



Os dados utilizados para a modelagem no aprendizado de máquina (dados de treinamento) não são os mesmos dados fornecidos durante o processo de teste (dados de entrada), conforme ilustrado na Figura 32. A distinção entre os dados de treinamento e os dados de entrada é um desafio estrutural enfrentado pelo aprendizado de máquina. É justo afirmar que todos os problemas no processo de aprendizado de máquina surgem dessa distinção. Por exemplo, ao utilizar textos manuscritos de uma única pessoa como dados de treinamento, a capacidade do

modelo em reconhecer com sucesso a caligrafia de outra pessoa é bastante reduzida (KIM, 2017).

Nenhuma abordagem de aprendizado de máquina pode alcançar o objetivo desejado baseando-se em dados de treinamento inadequados. Portanto, é crucial que as abordagens de aprendizado de máquina obtenham dados de treinamento imparciais e que reflitam de forma precisa as características dos dados reais. O processo de garantir que o desempenho do modelo seja consistente, independentemente dos dados de treinamento ou de entrada, é conhecido como generalização (KIM, 2017).

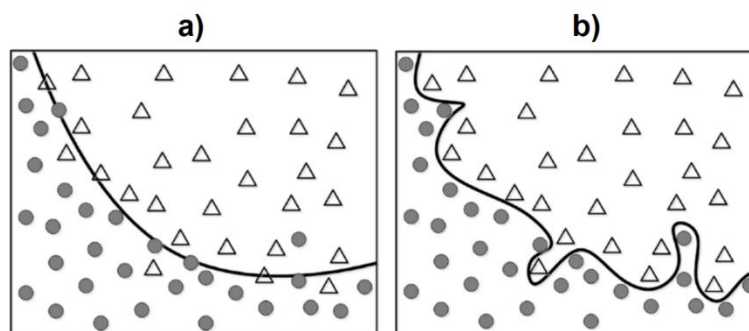
Na generalização, avalia-se a capacidade do modelo em analisar dados inéditos e fazer previsões corretas após ser treinado utilizando um conjunto de treinamento anterior. O sucesso do aprendizado de máquina depende significativamente da qualidade da generalização alcançada. A fim de evitar a degradação do desempenho causada por discrepâncias entre os dados de treinamento e os dados reais de entrada, é crucial contar com uma quantidade adequada de dados de treinamento que seja representativa e imparcial. Dessa forma, busca-se minimizar quaisquer tendências ou vieses presentes nos dados de treinamento a fim de obter resultados mais precisos e confiáveis (KIM, 2017).

3.7.3 Sobreajuste

O sobreajuste, também conhecido em inglês como *overfitting*, é uma das principais causas de corrupção no processo de generalização. Para ilustrar essa situação, consideremos um problema de classificação em que desejamos separar os dados (círculos e triângulos) em dois grupos, como ilustrado na Figura 33. O objetivo do modelo é identificar uma curva que estabeleça a fronteira entre esses dois grupos, utilizando os círculos como dados de treinamento, em vez dos triângulos (KIM, 2017).

A curva representada na Figura 33a parece funcionar como uma fronteira razoável entre os dois grupos. No entanto, ao examinar melhor essa curva, percebe-se que existem alguns pontos classificados de forma incorreta, em relação à fronteira. Em outras palavras, esses dados apresentam algum nível de ruído. Entretanto, na prática, é impossível para o aprendizado de máquina distinguir esses detalhes (KIM, 2017).

Figura 33 - Ilustração de um problema de classificação em que o objetivo é criar um modelo capaz de separar os dados (círculos e triângulos) em dois grupos distintos. Na figura, a) representa um modelo generalizado que incorpora ruídos, enquanto a figura b) ilustra um modelo sobreajustado com capacidade de generalização reduzida. Adaptado de Kim 2017.



Uma vez que o aprendizado de máquina leva em consideração todos os dados, incluindo o ruído, ele acaba produzindo um modelo impreciso (como a curva apresentada na Figura 33a, por exemplo). Portanto, é comum que os dados de treinamento não sejam perfeitos e apresentem diferentes níveis de ruído. No entanto, se todos os elementos dos dados de treinamento estiverem corretos e se ajustarem perfeitamente ao modelo, conforme ilustrado na Figura 33b, isso pode resultar em uma capacidade de generalização reduzida. Esse fenômeno, em que um modelo se ajusta muito bem aos dados previamente observados, mas apresenta ineficácia na previsão de novos resultados, é conhecido como sobreajuste (KIM, 2017).

Embora o aprendizado de máquina seja capaz de gerar modelos excelentes a partir de dados de treinamento, é importante destacar que um modelo eficaz construído com esses dados pode não representar de forma adequada os dados reais. No entanto, é crucial entender que tornar o modelo intencionalmente mais ou menos preciso não é a solução, uma vez que a redução dos erros nos dados de treinamento pode resultar em sobreajuste, comprometendo a capacidade de generalização. Para lidar com esses desafios, são empregadas técnicas para mitigar o sobreajuste, pois ele afeta significativamente o nível de desempenho do aprendizado de máquina. Dentre estas técnicas estão a regularização e a validação (KIM, 2017).

3.7.4 Regularização e validação em aprendizado de máquina

A regularização é uma abordagem numérica que busca construir um modelo com estrutura simplificada. Essa simplificação é feita com o intuito de evitar o

problema de sobreajuste, com uma perda mínima de desempenho. Um exemplo ilustrativo desse fenômeno foi apresentado anteriormente na Figura 33a e é referente a um problema de classificação. O modelo apresentado na Figura 33b, que está sobreajustado, é mais complexo e possui uma capacidade de generalização reduzida. Apesar de o modelo exibido na Figura 33a não classificar corretamente alguns pontos, ele é mais simples e melhor reflete as características gerais do grupo (KIM, 2017).

No exemplo ilustrado na Figura 33b, observa-se que o modelo de agrupamento está sobreajustado. Devido à simplicidade dos dados de treinamento, este sobreajuste pode ser facilmente visualizado. No entanto, esse cenário não é representativo da maioria das situações, onde os dados podem possuir dimensões mais elevadas. Nesse tipo de situação, torna-se inviável desenhar o modelo e avaliar intuitivamente os efeitos do sobreajuste nos dados. Com isso, torna-se necessário recorrer a outros métodos para determinar se o modelo treinado está sofrendo de sobreajuste ou não. Nesse contexto, a validação desempenha um papel fundamental (KIM, 2017).

A validação é um procedimento que envolve a reserva de uma porção dos dados de treinamento para monitorar o desempenho do método adotado. Esse conjunto de dados separado é utilizado exclusivamente no processo de validação, não sendo empregado durante o treinamento. Uma vez que os erros de modelagem nos dados de treinamento não são capazes de indicar diretamente o sobreajuste, recorreremos aos dados de validação para verificar se o modelo está sofrendo desse fenômeno. O sobreajuste pode ser identificado quando o modelo treinado apresenta um baixo desempenho para as entradas de dados reservadas à validação. Nesse caso, procedemos com modificações no modelo visando evitar o problema (KIM, 2017).

Considerando a validação como parte do processo de treinamento de aprendizado de máquina, ele pode ser dividido em três etapas fundamentais: 1) Os dados de treinamento são divididos em dois grupos distintos: um destinado ao treinamento propriamente dito e outro reservado para a validação. Geralmente, adota-se uma proporção de 80% para o conjunto de treinamento e 20% para o conjunto de validação. 2) O modelo é treinado utilizando o conjunto de dados de treinamento. 3) E, por fim, avalia-se o desempenho do modelo empregando o conjunto de dados de validação. Com base nessa análise, duas situações podem

ocorrer: a) se o modelo apresentar um desempenho satisfatório, o treinamento é concluído; b) contudo, se o desempenho não atingir resultados satisfatórios, é necessário modificar o modelo e repetir o processo de treinamento (KIM, 2017).

3.7.5 Tipos de aprendizado de máquina

Ao longo do tempo, diversas técnicas de aprendizado de máquina foram desenvolvidas com o objetivo de resolver uma ampla gama de problemas, proporcionando a flexibilidade necessária para abordar diferentes desafios de forma adequada. Essas técnicas podem ser agrupadas em três categorias principais, determinadas pelo método de treinamento utilizado: aprendizado supervisionado, aprendizado não supervisionado e aprendizado por reforço (JOVEL; GREINER, 2021; KIM, 2017). Essas classificações abrangem uma ampla gama de métodos, permitindo a aplicação de diferentes abordagens conforme a natureza e os requisitos de cada problema (KIM, 2017).

A aprendizagem supervisionada apresenta semelhanças significativas com o processo de aprendizado humano. Por exemplo, assim como os seres humanos adquirem novos conhecimentos ao resolver exercícios para praticar um determinado conceito, podemos descrever a aprendizagem supervisionada em três etapas fundamentais: 1) Um exercício é selecionado e o conhecimento existente é aplicado para resolver o problema; 2) Em seguida, a resposta é comparada com a solução esperada; 3) E, após essa avaliação, duas situações podem ocorrer: a) se a resposta estiver correta, passa-se para o próximo exercício; b) no entanto, se a resposta estiver incorreta, realiza-se uma modificação no conhecimento atual e o processo é repetido integralmente (DEPREZ; ROBINSON, 2022; JOVEL; GREINER, 2021; KIM, 2017).

Nessa analogia entre o processo de aquisição de conhecimento humano e a aprendizagem de máquina, os problemas e soluções do exercício correspondem aos dados de treinamento, enquanto o conhecimento adquirido corresponde ao modelo. É essencial ressaltar que a obtenção das soluções é o aspecto vital da aprendizagem supervisionada. O nome dessa técnica está diretamente relacionado ao processo no qual um professor orienta os estudos dos alunos, fornecendo soluções para que eles as memorizem (KIM, 2017).

No contexto do aprendizado supervisionado, cada conjunto de dados de treinamento é composto por pares de entrada (também conhecidos como *input*) e saída (também conhecidos como *output*) corretos. A saída correta representa o resultado esperado que o modelo deve produzir para uma determinada entrada fornecida. Neste caso, o processo de aprendizado consiste em uma série de ajustes realizados no modelo para reduzir a discrepância entre a saída correta e a saída produzida pelo modelo para um dado valor de entrada. Quando um modelo é treinado de forma ideal, ele é capaz de produzir uma saída correta que corresponde exatamente à entrada dos dados de treinamento (KIM, 2017).

Por outro lado, o aprendizado não supervisionado utiliza dados de treinamento compostos apenas por entradas, sem a presença de saídas corretas. À primeira vista, pode parecer desafiador compreender como treinar um modelo sem saídas corretas conhecidas. No entanto, já foram desenvolvidos diversos métodos que abordam essa questão. O aprendizado não supervisionado é frequentemente utilizado para explorar as características dos dados e realizar o pré-processamento deles. Esse conceito é comparável a um aluno que classifica os problemas com base em suas estruturas e características, sem, no entanto, aprender a resolvê-los devido à ausência de soluções conhecidas para serem memorizadas (JOVEL; GREINER, 2021; KIM, 2017).

O aprendizado por reforço é uma técnica que utiliza conjuntos de entrada, valores de saída, recompensas e punições como sinais para guiar comportamentos positivos e negativos, respectivamente, durante o processo de treinamento. Essencialmente, trata-se de um processo de otimização que aprende por meio da experiência, utilizando dados coletados do ambiente por meio de suas próprias observações. No início, o agente de aprendizado por reforço não possui conhecimento prévio sobre a tarefa a ser realizada e inicia sem uma noção clara do que fazer. No entanto, por meio de tentativa e erro, sendo recompensado por ações bem-sucedidas e punido por ações negativas, o agente aprende a favorecer e maximizar as ações que geram recompensas, enquanto descarta, ao longo do tempo, as ações que geram punições (JOVEL; GREINER, 2021; KIM, 2017).

Neste trabalho, aprofundaremos a discussão exclusivamente para o aprendizado supervisionado, uma vez que este é o método que será empregado nas técnicas de aprendizado de máquina propostas neste estudo.

3.7.6 Classificação e regressão

No campo do aprendizado supervisionado, as aplicações mais comuns são classificação e regressão. Entre esses dois tipos, a classificação é amplamente reconhecida como a aplicação mais frequente em aprendizado de máquina. O problema de classificação visa atribuir corretamente dados a classes específicas. Por exemplo, serviços de filtragem de spam podem ser usados para classificar e-mails como regulares ou spam. De forma semelhante, serviços de reconhecimento de dígitos podem classificar imagens de dígitos em números de 0 a 9, enquanto serviços de reconhecimento facial podem classificar imagens faciais comparando-as com imagens de usuários registrados. Esses exemplos ilustram a diversidade de aplicações de classificação, que desempenham um papel fundamental em uma ampla gama de problemas de aprendizado de máquina (KIM, 2017).

Conforme discutido anteriormente, o aprendizado supervisionado requer pares de entrada e saída corretos para o treinamento dos dados. No contexto do problema de classificação, o objetivo é determinar a qual classe pertencem os dados de entrada. Portanto, em um par de entrada e saída qualquer, a classe desempenha o papel da saída correta. Para ilustrar essa ideia, consideremos o problema de classificação apresentado anteriormente na Figura 33. Nesse exemplo, o objetivo é que o aprendizado de máquina forneça um modelo capaz de determinar a qual das duas classes, representadas por Δ ou $\circ$, pertence a coordenada de entrada fornecida pelo usuário (x, y) (KIM, 2017).

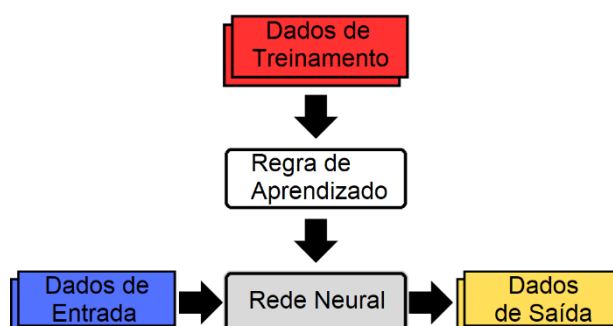
Em contraposição à classificação, a regressão não se preocupa em determinar a classe, mas sim em estimar um valor numérico. Por exemplo, considerando um conjunto de dados contendo informações de idade e renda, é possível desenvolver um modelo capaz de estimar a renda com base na idade fornecida. Essa situação exemplifica um problema de regressão, onde o objetivo é obter uma estimativa precisa do valor de interesse em relação às variáveis de entrada. Uma abordagem alternativa para descrever o problema de regressão é considerá-lo como uma tarefa de previsão, em que as variáveis de saída são estimadas com base nos dados de entrada. Nesse contexto, o objetivo é desenvolver um modelo capaz de inferir ou antecipar os valores das variáveis de saída com base nas informações fornecidas pelas variáveis de entrada (KIM, 2017).

Tanto a classificação quanto a regressão são subcategorias do aprendizado supervisionado. Consequentemente, seus conjuntos de dados de treinamento possuem a mesma estrutura de {entrada, saída correta}. A diferença reside apenas no tipo de saída correta: a classificação utiliza classes, enquanto a regressão requer valores numéricos. Em resumo, a análise se enquadra na categoria de classificação quando o objetivo é que o modelo determine a qual grupo os dados de entrada pertencem, e na categoria de regressão quando o modelo estima uma tendência ou padrão nos dados, fornecendo valores estimados (KIM, 2017).

3.7.7 Rede neural

Existem várias formas de implementar modelos de aprendizado de máquina, sendo uma delas a rede neural. De forma semelhante ao fluxograma ilustrado na Figura 32, a Figura 34 representa a relação entre o aprendizado de máquina e a rede neural, onde a rede neural é o modelo a ser construído. É importante observar que, nessa comparação, a “Rede Neural” substitui o termo “Modelo” e a “Regra de Aprendizado” substitui o termo “Aprendizado de Máquina”. Dentro do âmbito da rede neural, o processo de determinar o modelo (rede neural) é denominado regra de aprendizado (KIM, 2017; SILVA et al., 2017).

Figura 34 - Fluxograma representando a relação entre o aprendizado de máquina e a rede neural, no qual a rede neural é o modelo a ser construído. Além disso, são representados os passos verticais para a construção da rede neural a partir de dados de treinamento e os passos horizontais para testar a rede neural utilizando dados de entrada. Adaptado de Kim 2017.



Uma abordagem comum para compreender o funcionamento de uma rede neural é compará-la com o modo como nosso cérebro armazena informações. Embora tanto o cérebro humano quanto um computador sejam capazes de armazenar informações, seus mecanismos são bastante distintos. Enquanto um computador armazena dados em locais específicos da memória, o cérebro modifica as conexões entre neurônios. Os neurônios em si não possuem capacidade de

armazenamento, apenas transmitem sinais de um para outro. O cérebro é uma imensa rede composta por esses neurônios, e as diferentes associações entre eles formam informações específicas (KIM, 2017; SILVA et al., 2017).

A rede neural é uma tentativa de emular o mecanismo de funcionamento do cérebro. Assim como o cérebro é composto por inúmeras conexões entre neurônios, a rede neural é construída com conexões de neurônios artificiais, denominados nós. Essa estrutura busca replicar a transmissão sináptica entre os neurônios, utilizando conexões que são estabelecidas com base em pesos sinápticos. O peso sináptico representa a magnitude da influência que um nó exerce sobre outro na rede neural (KIM, 2017; SILVA et al., 2017).

Para obter uma compreensão mais aprofundada em relação ao funcionamento de uma rede neural artificial (RNA), é útil considerar o neurônio artificial representado esquematicamente na Figura 35. Nela, a esfera azul representa o nó, enquanto as setas indicam o fluxo do sinal. Nesse tipo de modelo, cada neurônio de uma rede pode ser implementado de acordo com esse tipo de representação. Os múltiplos sinais de entrada provenientes do ambiente externo são representados pelo conjunto $\{x_1, x_2, x_3, \dots, x_n\}$, assim como os impulsos elétricos externos captados pelos dendritos em um neurônio biológico. Esses sinais de entrada são processados e transmitidos através do neurônio artificial, onde ocorre uma combinação ponderada dos valores de entrada, similar à integração sináptica que ocorre no neurônio biológico (KIM, 2017; SILVA et al., 2017).

Na Figura 35, o conjunto $\{w_1, w_2, w_3, \dots, w_n\}$ representa as ponderações atribuídas às conexões sinápticas da rede no neurônio artificial. Cada valor de entrada $\{x_i\}$ é multiplicado pelo seu peso sináptico correspondente $\{w_i\}$, o que permite ponderar todas as informações externas recebidas pelo neurônio. Dessa forma, é possível observar que o valor de saída, indicado por u , é obtido por meio da soma ponderada dos valores de entrada, representada pela função de agregação linear (Σ) menos o limiar de ativação, ou viés, (θ). Essa abordagem permite que o neurônio artificial atribua diferentes níveis de importância aos sinais de entrada, de acordo com as ponderações definidas pelas conexões sinápticas (KIM, 2017; SILVA et al., 2017).

Ainda considerando a Figura 35, podemos identificar sete elementos básicos que compõem o neurônio artificial, sendo eles: 1) Sinais de entrada ($x_1, x_2, \dots, x_n$), que representam amostras provenientes do ambiente externo, refletindo os valores

assumidos pelas variáveis em uma aplicação específica. Vale ressaltar que, normalmente, os sinais de entrada passam por um processo de normalização para otimizar a eficiência computacional dos algoritmos de aprendizado. 2) Pesos sinápticos ($w_1, w_2, \dots, w_n$), que são valores atribuídos a cada variável de entrada, permitindo a quantificação da relevância de cada uma delas em relação ao funcionamento do neurônio. 3) Função de agregação linear (Σ), responsável por somar os sinais de entrada ponderados pelos pesos sinápticos, gerando um sinal de ativação. 4) Limiar de ativação, ou viés, (θ) que é uma variável utilizada para definir o limite necessário para que o resultado da função de agregação linear atinja um valor que desencadeie a ativação do neurônio em direção à sua saída. 5) Potencial de ativação (u), obtido pela diferença entre a função de agregação linear e o limiar de ativação. Se esse valor for positivo ($u \geq \theta$), o neurônio gera um potencial excitatório; caso contrário, será inibitório. 6) Função de ativação (g), responsável por restringir a saída do neurônio a uma faixa adequada de valores, de acordo com sua imagem funcional específica. 7) Sinal de saída (y), que representa o valor final produzido pelo neurônio com base em um conjunto específico de sinais de entrada e pode ser utilizado como entrada para outros neurônios interconectados sequencialmente. Esses elementos fundamentais compõem a estrutura e o funcionamento do neurônio artificial, permitindo que ele processe informações e realize tarefas específicas no contexto de uma rede neural (KIM, 2017; SILVA et al., 2017).

As Equações 36 e 37 resumem o resultado gerado pelo neurônio artificial:

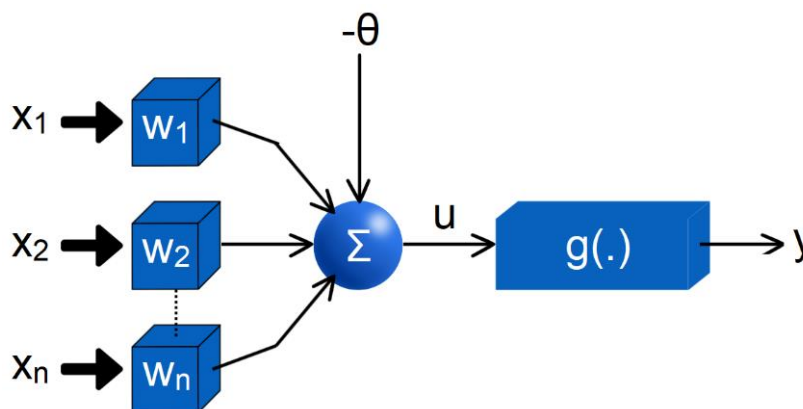
$$u = \sum_{i=1}^n w_i x_i - \theta, \quad (36)$$

$$y = g(u). \quad (37)$$

Por meio dessas duas equações, é possível resumir a operação realizada pelo neurônio artificial em cinco etapas distintas. Essas etapas são essenciais para compreender o processo de funcionamento do neurônio e sua contribuição para a rede neural como um todo. São elas: 1) Apresentação dos sinais de entrada ($x_1, x_2, \dots, x_n$) ao neurônio, representando as variáveis a serem processadas. 2) Multiplicação de cada valor de entrada pelo seu respectivo peso sináptico correspondente ($w_1, w_2, \dots, w_n$). 3) Cálculo do potencial de ativação (u) por meio da soma ponderada dos sinais de entrada e a subtração do limiar de ativação. 4)

Aplicação de uma função de ativação apropriada (g) para limitar o valor de saída do neurônio. 5) Compilação do sinal de saída (y) através da aplicação da função de ativação neural ao potencial de ativação obtido. Essas etapas são cruciais para o processamento adequado dos sinais de entrada pelo neurônio artificial, permitindo a geração de uma resposta coerente e útil. A compreensão dessas etapas e sua aplicação correta são fundamentais para o desenvolvimento e otimização de modelos de rede neural (JOVEL; GREINER, 2021; KIM, 2017; SILVA et al., 2017).

Figura 35 - Representação esquemática de um neurônio artificial recebendo n sinais de entrada provenientes do ambiente externo. Esses sinais são representados pelo conjunto $\{x_1, x_2, x_3, \dots, x_n\}$, a esquerda. O conjunto $\{w_1, w_2, w_3, \dots, w_n\}$ representa as ponderações atribuídas às conexões sinápticas da rede no neurônio artificial. O valor de saída, indicado por u , é obtido por meio da soma ponderada dos valores de entrada, representada pela função de agregação linear (Σ) menos o limiar de ativação, ou viés, (θ). A função de ativação (g) é responsável por restringir a saída do neurônio a uma faixa adequada de valores. O sinal de saída (y) representa o valor final produzido pelo neurônio.



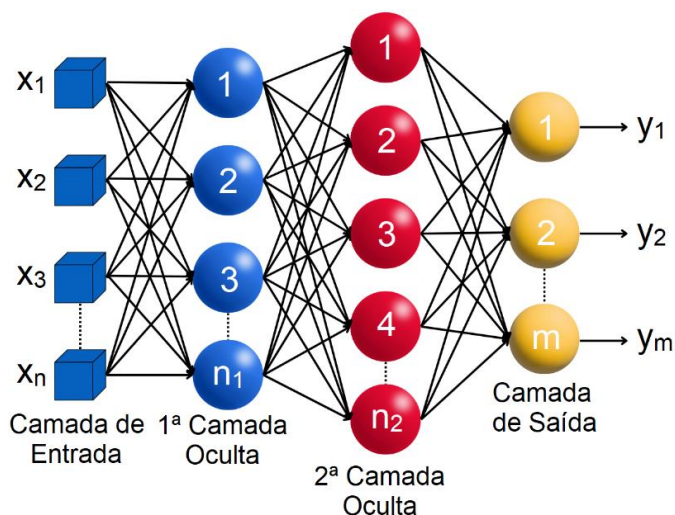
3.7.8 Camadas de uma rede neural artificial

Uma rede neural artificial geralmente pode ser dividida em três partes principais: a camada de entrada, as camadas ocultas e a camada de saída. Na Figura 36 está ilustrada uma representação esquemática de como são divididas estas três camadas. Cada uma delas camadas desempenha um papel específico no processamento dos dados e na geração dos resultados (KIM, 2017; SILVA et al., 2017).

Na estrutura apresentada, a camada de entrada é responsável por receber informações ou dados provenientes do ambiente externo. Esses valores de entrada podem ser amostras, sinais, características ou medições. Geralmente, os valores de entrada passam por um processo de normalização, para garantir que estejam dentro dos limites de valores estabelecidos pelas funções de ativação. Essa normalização

contribui para melhorar a precisão numérica das operações matemáticas realizadas pela rede (KIM, 2017; SILVA et al., 2017).

Figura 36 - Representação esquemática da arquitetura de uma rede neural artificial composta pela camada de entrada, as camadas ocultas e a camada de saída. Cada esfera representa um neurônio artificial diferente.



As camadas ocultas, por sua vez, consistem em neurônios que têm como função extrair padrões e características relevantes associadas ao processo ou sistema em análise. Essas camadas realizam a maior parte do processamento interno da rede, identificando relações complexas e não lineares nos dados de entrada. Por fim, a camada de saída é composta por neurônios que produzem e apresentam os valores finais de saída da rede. Esses valores resultam do processamento realizado pelos neurônios nas camadas anteriores e representam a resposta ou a conclusão obtida pela rede neural (KIM, 2017; SILVA et al., 2017).

Na arquitetura da rede neural em camadas, o fluxo do sinal ocorre de forma sequencial e progressiva, iniciando na camada de entrada, atravessando as camadas ocultas e finalmente sendo transmitido para a camada de saída. Esse processo é caracterizado pelo avanço gradual do sinal, camada por camada. Em outras palavras, os nós em uma determinada camada recebem o sinal de entrada simultaneamente e, em seguida, processam e transmitem o sinal resultante para a próxima camada de forma sincronizada. Esse fluxo unidirecional do sinal é uma característica fundamental das redes neurais em camadas e permite a extração e transformação progressiva das informações nos diferentes estágios da rede. Essa abordagem sequencial e paralela de processamento é essencial para o desempenho e eficiência da rede em lidar com problemas complexos de aprendizado de máquina,

pois permite a representação de relações não lineares e a captura de padrões relevantes em um processo gradual e estruturado (KIM, 2017; SILVA et al., 2017).

No contexto das redes neurais artificiais, existem diferentes arquiteturas que variam em termos da disposição dos neurônios, suas conexões e a composição de suas camadas. Podemos identificar quatro tipos principais de arquiteturas: 1) rede *feedforward* de camada única, 2) redes *feedforward* multicamadas, 3) redes recorrentes e 4) redes *mesh* (SILVA et al., 2017). Dentre esses tipos de redes, daremos destaque exclusivo às redes *feedforward* multicamadas, pois foi a escolhida como o método a ser empregado na técnica de aprendizado de máquina proposta neste trabalho.

3.7.9 Redes *feedforward* multicamadas

As redes *feedforward* multicamadas são estruturas compostas por uma ou mais camadas neurais ocultas. Na Figura 36, apresentada anteriormente, está ilustrado uma representação esquemática desse tipo de rede. Essas redes são amplamente utilizadas para solucionar uma variedade de problemas, incluindo aproximação de funções, classificação de padrões, identificação de sistemas, controle de processos, otimização, robótica, entre outros. Essa versatilidade de aplicações evidencia a relevância das redes *feedforward* multicamadas como uma poderosa ferramenta na área de aprendizado de máquina (KIM, 2017; SILVA et al., 2017).

A estrutura da rede *feedforward* multicamadas, apresentada na Figura 36, é composta por uma camada de entrada contendo n sinais de amostras, duas camadas ocultas com n_1 e n_2 neurônios, respectivamente, e uma camada de saída com m neurônios que representam os valores de saída correspondentes ao problema em análise. Observando essa figura, é possível perceber que a quantidade de neurônios na primeira camada oculta não precisa necessariamente ser igual a quantidade de sinais na camada de entrada da rede. Na verdade, o número de camadas ocultas e sua respectiva quantidade de neurônios é determinada pela natureza e complexidade do problema sendo mapeado pela rede, assim como pela quantidade e qualidade dos dados disponíveis para o problema. No entanto, é importante ressaltar que o número de sinais de saída sempre corresponderá ao número de neurônios na respectiva camada (KIM, 2017; SILVA et al., 2017).

Dentre as redes neurais que se destacam pelo uso de arquiteturas *feedforward* multicamadas, encontram-se a perceptron multicamadas e a função de base radial. Essas redes utilizam algoritmos de aprendizado específicos em seus processos de treinamento. A perceptron multicamadas faz uso da regra delta generalizada como algoritmo de aprendizado, enquanto a função de base radial emprega a regra competitiva ou delta. Esses algoritmos desempenham um papel fundamental no ajuste dos pesos sinápticos das redes, permitindo a capacidade de aprendizado e adaptação dos modelos às características dos dados e às tarefas específicas a serem realizadas (KIM, 2017; SILVA et al., 2017).

3.7.10 Processo de treinamento de uma rede perceptron multicamadas

O treinamento de redes perceptron multicamadas utilizando a regra delta generalizada, também conhecido como algoritmo de retropropagação (ou *backpropagation*, em inglês), é realizado em três etapas distintas. A primeira etapa, denominada propagação direta, consiste na inserção dos sinais $\{x_1, x_2, \dots, x_n\}$ de uma amostra específica do conjunto de treinamento na camada de entrada da rede. Esses sinais são então propagados de camada por camada até a geração das saídas correspondentes. Durante essa etapa, o objetivo é obter as respostas da rede neural levando em consideração apenas os valores atuais dos pesos sinápticos e do limiar de ativação dos neurônios, que permanecem inalterados ao longo dessa etapa do processo de treinamento (KIM, 2017; SILVA et al., 2017).

Na etapa subsequente, as respostas geradas pelas saídas da rede são comparadas às respostas corretas correspondentes, isso porque se trata de um processo de aprendizado supervisionado. Por meio de cálculos, são determinados os erros entre os valores produzidos pelos neurônios de saída e os valores corretos. Esses erros são, então, utilizados para ajustar os pesos sinápticos e os limiares de ativação de todos os neurônios. Esse processo de ajuste dos pesos sinápticos e limiares é fundamental para aprimorar o desempenho da rede e otimizar sua capacidade de realizar previsões ou classificações com maior precisão (KIM, 2017; SILVA et al., 2017).

Após a realização dos cálculos dos erros durante a etapa de propagação direta, torna-se necessária a aplicação da terceira etapa do algoritmo de

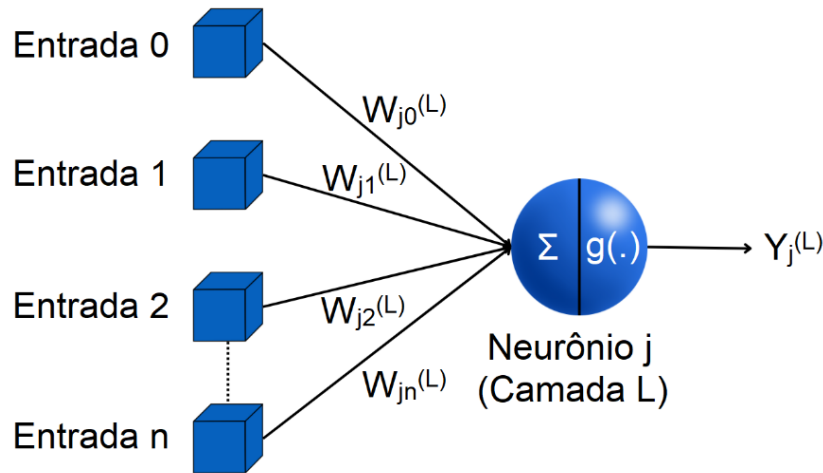
retropropagação, conhecida como propagação reversa. Diferentemente das etapas anteriores, é durante esse estágio que ocorrem as modificações e ajustes dos pesos sinápticos e dos limiares de ativação de todos os neurônios da rede neural. Essas alterações são realizadas com o objetivo de diminuir os erros identificados, possibilitando assim que a rede se adapte e melhore seu desempenho ao longo do processo de treinamento. A propagação reversa é essencial para garantir a capacidade de aprendizado da rede, permitindo que ela refine seus parâmetros internos com base nos erros observados durante a etapa de propagação direta (KIM, 2017; SILVA et al., 2017).

Em resumo, a combinação sequencial dos estágios de propagação direta e reversa possibilita o ajuste dos pesos sinápticos e limiares de ativação dos neurônios em cada iteração do treinamento. Consequentemente, ocorre uma diminuição gradual da soma dos erros gerados pelas respostas da rede em relação às respostas desejadas. Essa abordagem iterativa de refinamento dos parâmetros da rede contribui para a melhoria do desempenho ao longo do processo de aprendizado, permitindo que a rede neural se aproxime cada vez mais dos resultados desejados. O ciclo de propagação direta e reversa é fundamental para a otimização dos pesos sinápticos e a minimização dos erros, fortalecendo assim a capacidade da rede em realizar tarefas de predição, classificação ou qualquer outra tarefa para a qual tenha sido projetada (KIM, 2017; SILVA et al., 2017).

3.7.11 Funcionamento do algoritmo de retropropagação

Para compreender de maneira mais aprofundada o princípio de funcionamento do algoritmo de retropropagação, é essencial definir algumas variáveis e parâmetros auxiliares que desempenharão um papel fundamental nesse processo. Através da representação esquemática de um neurônio artificial que recebe n sinais de entrada provenientes do ambiente externo, apresentada na Figura 37, torna-se possível definir o conjunto de variáveis que direcionarão a descrição detalhada do referido algoritmo. Cada neurônio está associado a uma das camadas de uma rede neural artificial, semelhante à ilustrada na Figura 36, no qual $g(.)$ representa uma função de ativação contínua e diferenciável em todo o seu domínio.

Figura 37 - Representação esquemática de um neurônio artificial recebendo n sinais de entrada provenientes do ambiente externo. Nessa representação, o neurônio (j) está associado a uma das camadas (L) de uma rede neural artificial e $g(\cdot)$ representa uma função de ativação.



Dois exemplos de funções de ativação são a função logística e a tangente hiperbólica (KIM, 2017; SILVA et al., 2017). A função logística é responsável por gerar um valor de saída que sempre se situa no intervalo entre zero e um. Sua formulação matemática pode ser expressa pela Equação 38 (JOVEL; GREINER, 2021; SILVA et al., 2017):

$$g(u) = \frac{1}{1 + e^{-\beta u}}, \quad (38)$$

no qual a constante real β está relacionada à inclinação da função logística em seu ponto de inflexão. Diferente da função logística, a função tangente hiperbólica é responsável por gerar um valor de saída que sempre se situa no intervalo entre -1 e 1. Sua formulação matemática pode ser expressa pela Equação 39:

$$g(u) = \frac{1 - e^{-\beta u}}{1 + e^{-\beta u}}, \quad (39)$$

no qual β também está relacionada à inclinação da função logística em seu ponto de inflexão (SILVA et al., 2017).

Por meio da Figura 37, apresentada anteriormente, e da Figura 38, é possível definir os seguintes parâmetros: a) $W_{ji}^{(L)}$ refere-se a matrizes de pesos, em que os elementos representam o valor do peso sináptico conectando o neurônio j da camada (L) ao neurônio i da camada ($L - 1$). b) $I_j^{(L)}$ corresponde a vetores que contêm os valores de entrada ponderados e relacionados ao neurônio j da camada L . De forma geral, esses vetores podem ser determinados por meio da Equação 40,

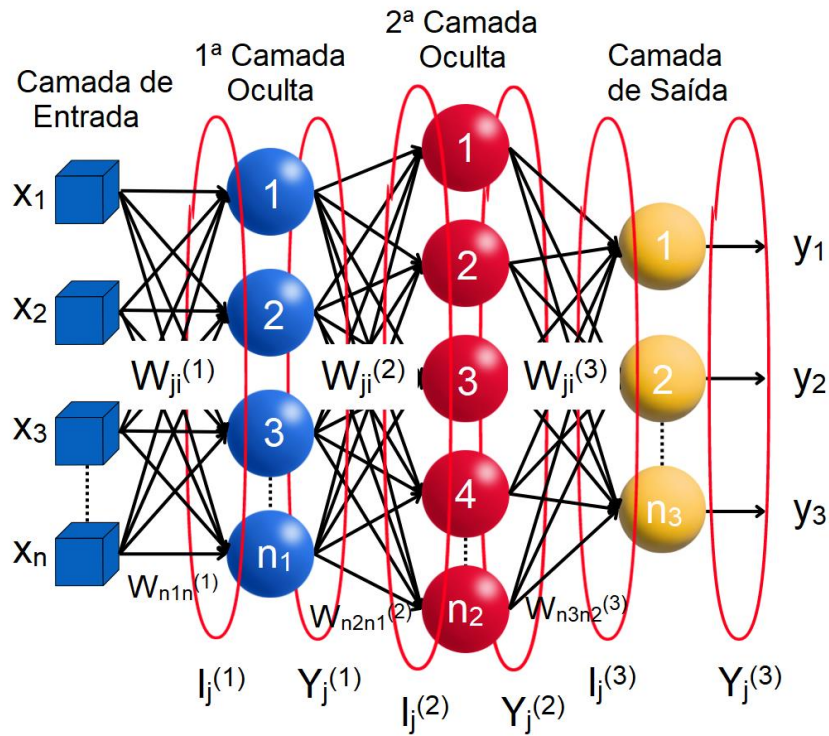
$$I_j^{(L)} = \sum_{i=0}^n W_{ji}^{(L)} x_i = W_{j0}^{(L)} x_0 + W_{j1}^{(L)} x_1 + W_{j2}^{(L)} x_2 + \dots + W_{jn}^{(L)} x_n. \quad (40)$$

c) O vetor $Y_j^{(L)}$ representa a saída do neurônio j da camada (L) . A obtenção desse vetor é realizada por meio da aplicação da Equação 41,

$$Y_j^{(L)} = g(I_j^{(L)}) = g\left(\sum_{i=0}^n W_{ji}^{(L)} x_i\right), \quad (41)$$

que descreve o cálculo necessário para determinar a saída de cada neurônio na respectiva camada (KIM, 2017; SILVA et al., 2017)

Figura 38 - Representação esquemática da arquitetura de uma rede neural artificial composta pela camada de entrada, as camadas ocultas e a camada de saída. Na figura, $W_{ji}^{(L)}$ refere-se a matrizes de pesos; $I_j^{(L)}$ corresponde a vetores que contêm os valores de entrada ponderados e relacionados ao neurônio j da camada L ; e $Y_j^{(L)}$ representa a saída do neurônio j da camada (L) .



O passo subsequente na derivação do algoritmo de retropropagação consiste na definição de uma função que represente o erro de aproximação. Essa função tem como finalidade mensurar o desvio das respostas geradas pelos neurônios de saída da rede em relação aos valores desejados correspondentes. No contexto de uma rede perceptron multicamadas, como a ilustrada na Figura 38, ao considerarmos uma amostra de treinamento k , podemos definir uma função de erro quadrático por meio da Equação 42,

$$E(k) = \frac{1}{2} \sum_{j=1}^{n_3} \left(d_i(k) - Y_j^{(3)}(k) \right)^2, \quad (42)$$

no qual $Y_j^{(3)}$ representa o valor gerado pelo neurônio de saída j da rede neural para a amostra de treinamento k e $d_i(k)$ representa o valor desejado correspondente para a mesma amostra. A Equação 42 pode ser utilizada para avaliar o desempenho local associado aos resultados obtidos pelos neurônios de saída em relação à amostra fornecida. Essa função desempenha um papel crucial na retropropagação do erro, auxiliando no ajuste dos pesos sinápticos durante o processo de aprendizado da rede neural (KIM, 2017; SILVA et al., 2017).

Dessa forma, ao considerarmos um conjunto de treinamento contendo p amostras, é possível avaliar o desempenho geral do algoritmo de retropropagação por meio da medição do erro médio quadrático, conforme expresso na Equação 43 (KIM, 2017; SILVA et al., 2017),

$$E_M = \frac{1}{p} \sum_{k=1}^p E(k). \quad (43)$$

3.7.11 Ajuste dos pesos sinápticos

Nessa discussão, será abordado o método que se baseia no gradiente da função de erro quadrático, representado anteriormente na Equação 42, para descrever como é realizado os ajustes nos pesos sinápticos. O objetivo principal do processo de treinamento da rede neural é ajustar as matrizes de pesos ($W_{ji}^{(L)}$) de maneira a minimizar o erro entre os valores de saída gerados pela rede e os valores de saída desejados. Nesse contexto, o erro associado ao neurônio j da camada L , em relação à amostra de treinamento k , representado pela Equação 42, é utilizado na definição da regra de ajuste (KIM, 2017; SILVA et al., 2017).

O primeiro passo é ajustar os pesos sinápticos na camada de saída ($W_{ji}^{(3)}$). A regra de ajuste é obtida aplicando a definição de gradiente e a regra da cadeia de diferenciação de funções, conforme mostrado na Equação 44,

$$\nabla E^{(3)} = \frac{\partial E}{\partial W_{ji}^{(3)}} = \frac{\partial E}{\partial Y_j^{(3)}} \frac{\partial Y_j^{(3)}}{\partial I_j^{(3)}} \frac{\partial I_j^{(3)}}{\partial W_{ji}^{(3)}}. \quad (44)$$

As derivadas parciais presentes nessa equação podem ser obtidas por meio das Equações 40, 41 e 42. Para o caso em que $L = 3$, essas derivadas resultam nas Equações 45, 46 e 47,

$$\frac{\partial I_j^{(3)}}{\partial W_{ji}^{(3)}} = Y_i^{(2)}, \quad (45)$$

$$\frac{\partial Y_j^{(3)}}{\partial I_j^{(3)}} = g'(I_j^{(3)}), \quad (46)$$

$$\frac{\partial E}{\partial Y_j^{(3)}} = -(d_i - Y_j^{(3)}), \quad (47)$$

no qual $g'(I_j^{(3)})$ representa a derivada de primeira ordem da função de ativação utilizada. Com a substituição das Equações 44, 46 e 47 na Equação 44, obtém-se a Equação 48,

$$\nabla E^{(3)} = \frac{\partial E}{\partial W_{ji}^{(3)}} = -(d_i - Y_j^{(3)})g'(I_j^{(3)})Y_j^{(2)}. \quad (48)$$

Dessa forma, para minimizar o erro, é necessário realizar o ajuste da matriz de pesos $W_{ji}^{(3)}$ no sentido contrário ao gradiente. Portanto, é crucial aplicar essa direção oposta durante o processo de ajuste dos pesos. Isso pode ser feito por meio da Equação 49,

$$\Delta W_{ji}^{(3)} = -\eta \frac{\partial E}{\partial W_{ji}^{(3)}} = -\eta \delta_j^{(3)} Y_j^{(2)}, \quad (49)$$

no qual η é a taxa de aprendizado do algoritmo de retropropagação e $\delta_j^{(3)}$ é definido como o gradiente local relacionado ao neurônio j na camada L e pode ser representado por meio da Equação 50 (KIM, 2017; SILVA et al., 2017),

$$\delta_j^{(3)} = (d_i - Y_j^{(3)})g'(I_j^{(3)}). \quad (50)$$

Por fim, é possível converter a Equação 49 em uma forma mais adequada para ser empregada em um procedimento iterativo, resultando na Equação 51,

$$W_{ji}^{(3)}(t+1) = W_{ji}^{(3)}(t) - \Delta W_{ji}^{(3)} = W_{ji}^{(3)}(t) + \eta \delta_j^{(3)} Y_j^{(2)}. \quad (51)$$

Essa conversão permite a utilização da equação em iterações sucessivas durante o processo. Em termos de linguagem algorítmica, a Equação 51 pode ser expressa de forma equivalente à Equação 52 (KIM, 2017; SILVA et al., 2017),

$$W_{ji}^{(3)} \leftarrow W_{ji}^{(3)} + \eta \delta_j^{(3)} Y_j^{(2)}. \quad (52)$$

Essa equivalência permite a representação computacional e implementação efetiva do processo descrito. Desse modo, a Equação 52 desempenha o papel de ajustar os pesos dos neurônios da camada 3 da rede neural, levando em consideração a discrepância entre as respostas obtidas pelas saídas dos neurônios e os respectivos valores desejados. Essa equação é fundamental para aprimorar o desempenho da rede ao corrigir as diferenças entre a saída esperada e a saída real (KIM, 2017; SILVA et al., 2017).

Diferentemente dos neurônios da camada de saída, que possuem acesso direto aos valores esperados para ajustar seus pesos sinápticos, os neurônios das camadas intermediárias dependem de estimativas de erro propagadas a partir das saídas. Este processo ocorre por meio do algoritmo de retropropagação de erro (backpropagation), onde os erros calculados nos neurônios da camada de saída são propagados para trás, ajustando progressivamente os pesos das camadas anteriores. Assim, a correção dos pesos nas camadas intermediárias só é iniciada após o ajuste dos pesos na camada posterior, seguindo uma hierarquia de correções baseada na contribuição de cada camada para o erro final do sistema (KIM, 2017; SILVA et al., 2017).

4 MATERIAIS E METODOLOGIA

4.1 FANTOMAS

4.1.1 Seleção dos materiais para a fabricação dos fantasmas

O silicone (Borracha de Silicone, Markertech Labs), também conhecido como polidimetilsiloxano (PDMS), foi escolhido como a matriz utilizada para a preparação dos fantasmas utilizados nesse trabalho. Ele foi escolhido por ser mais barato, em relação a outros polímeros, ser quimicamente resistente, flexível, fácil de manusear e de transportar e por apresentar propriedades ópticas estáveis em relação ao tempo. Além disso, ele possui índice de refração com valor próximo ao de tecidos biológicos. O índice de refração dele é de aproximadamente 1,44 entre a região do visível (VIS) e infravermelho próximo (NIR) do espectro eletromagnético (CAO et al., 2020; ESTERMANN; PAHR; REISINGER, 2020; KENNEDY et al., 2017).

As propriedades de ópticas dos fantasmas foram controladas por meio da adição de concentrações variadas de dióxido de titânio (TiO_2) (TI-602, Atlantic Equipment Engineers) e tinta nanquim (Super Nankin Profissional, Trident), como agentes de espalhamento e absorção, respectivamente. A escolha do TiO_2 foi devido a ele apresentar uma dependência no coeficiente de espalhamento reduzido, em relação ao comprimento de onda, similar ao de tecidos biológicos na região do NIR (AYERS et al., 2008; KENNEDY et al., 2017). E a escolha da tinta nanquim foi devido a ela ser mais barata, não ser tóxica e relativamente estável quimicamente e opticamente, em relação a outros corantes. Além disso, quando presente em fantasmas, ela costuma apresentar picos de absorção da região do visível (VIS) e NIR (AYERS et al., 2008; NTOMBELA; ADELEYE; CHETTY, 2020).

A combinação desses componentes permitiu a criação de fantasmas com propriedades ópticas desejáveis, possibilitando a realização de estudos e experimentos com maior precisão e relevância. Esses fantasmas foram essenciais para testes, calibração, padronização e otimização dos equipamentos e técnicas ópticas empregadas neste trabalho, assegurando a confiabilidade e a acurácia dos resultados obtidos.

4.1.2 Metodologia utilizada para a confecção dos fantasmas

Para produzir os fantasmas, seguimos a metodologia proposta por Saager et al., com algumas adaptações. Primeiramente, cerca de 40 g de PDMS bruto foram

pesados em um recipiente separado. Posteriormente, o TiO_2 foi diretamente adicionado ao PDMS e misturado com um agitador mecânico (Micro Retifica 300 F013030050, Dremel), assegurando a distribuição uniforme das partículas pelo PDMS viscoso. A suspensão foi então submetida à sonicação por 30 minutos para garantir a monodispersão das partículas.

A adição de tinta nanquim foi realizada com o auxílio de uma micropipeta (Labmate Soft LM1000 Blue, HTL Lab Solutions), seguida de agitação mecânica até que a suspensão apresentasse uma aparência homogênea. Em seguida, o agente de cura (Catalisador PS-1 para Borracha de Silicone, Redelease) foi incorporado à mistura com uma proporção em massa (% m/m) de aproximadamente 1% em relação à massa de PDMS. A mistura foi agitada manualmente por 30 segundos antes de ser despejada em moldes.

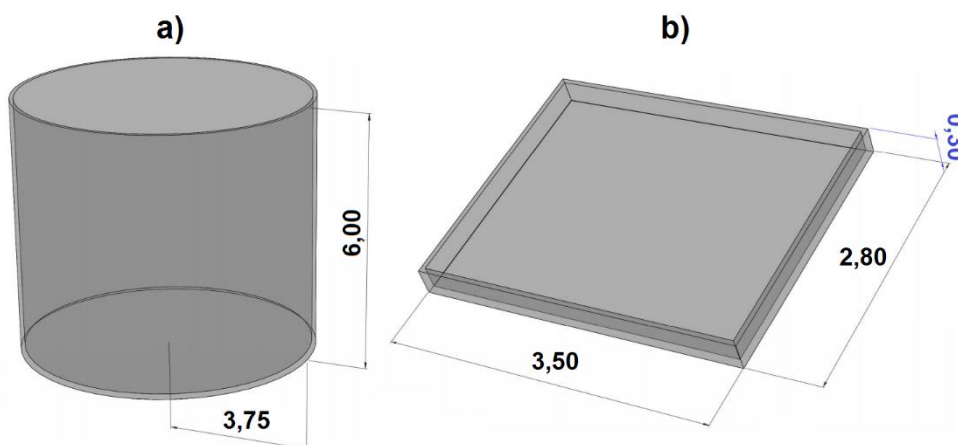
Devido à alta viscosidade do PDMS, a mistura manual tende a incorporar bolhas de ar. Por isso, o composto foi colocado em uma câmara de vácuo para a remoção de bolhas. Após a retirada completa das bolhas, a mistura foi despejada nos moldes e deixada em repouso para que ocorresse o processo de cura do silicone. Além disso, parte da suspensão foi despejada em moldes menores, com espessura de 0,30 cm, e deixada para curar por 24 horas. Após 24 horas, a superfície do fantoma solidificou, apresentando uma aparência lisa, indicando a remoção efetiva das bolhas de ar.

Foram utilizados três tipos de moldes para a confecção dos fantasmas: a) Um molde maior de polipropileno, com 3,75 cm de raio e 6,00 cm de altura; b) Um molde menor de polietileno tereftalato, com dimensões de 3,50 cm x 2,80 cm x 0,30 cm; c) Um molde similar ao maior (também de polipropileno), com 3,00 cm de raio e 5,00 cm de altura. Os moldes “a” e “c” foram utilizados para a preparação de fantasmas analisados com a técnica SFDI, enquanto o molde “b” foi utilizado para fantasmas destinados ao uso com uma esfera integradora (IS, do inglês *integrating sphere*) e o método IAD. Os fantasmas “a” e “c” possuem aproximadamente 1,50 cm de espessura. Na Figura 39 está ilustrada uma representação esquemática dos moldes “a” e “b” utilizados para armazenar a suspensão durante o processo de cura.

Os fantasmas utilizados neste trabalho continham uma massa total de aproximadamente 40 g. Destes 40 g, a quantidade de PDMS era predominante e representava mais de 99% da massa total. A massa de TiO_2 utilizada na confecção dos fantasmas variou entre 0 e 25 mg. A proporção em massa, em relação ao PDMS,

variou entre 0 e 0,375% (10^{-3} m/m). Os volumes da tinta nanquim, adicionados utilizando a micropipeta, variaram entre 15 e 60 μL . Portanto, a concentração do agente absorvedor variou entre 0,375 e 1,500 $\mu\text{L/g}$ de PDMS.

Figura 39 – Representação esquemática dos moldes utilizados para armazenar a suspensão durante o processo de cura. a) O molde maior tem dimensões de 3,75 cm de raio x 6,00 cm de altura e b) o molde menor tem dimensões de 3,50 cm x 2,80 cm x 0,30 cm.



4.2 ESFERA INTEGRADORA

4.2.1 Introdução à esfera integradora

As propriedades ópticas dos tecidos biológicos podem ser obtidas por meio da medida do espectro da luz espalhada em relação ao comprimento de onda da luz incidente de interesse. Este espectro pode ser diferencial, calculado ou medido em relação a certos ângulos de espalhamento, ou integrado em relação a intervalos de ângulos, que representam o campo de visão do espectrômetro usado. Quando uma esfera integradora é utilizada para medir estes espectros, o principal objetivo é medir a intensidade luz que é totalmente espalhada para frente $I_f(\theta, \lambda)$, ou para trás (retroespalhamento) $I_b(\theta, \lambda)$. Às vezes, para caracterizar as propriedades ópticas das amostras, também é necessário calcular a intensidade da luz que é transmitida de forma colimada $I_c(\lambda)$ (TUCHIN, 2015a).

A transmitância total $T_t(\lambda)$ é definida como a razão entre a luz que consegue atravessar uma determinada espessura de um material sem ser absorvida, representada por $I_t(\lambda)$, e a intensidade da luz incidente, $I_0(\lambda)$. Ou seja, ela pode ser representada por meio da Equação 53,

$$T_t(\lambda) = \frac{I_t(\lambda)}{I_0(\lambda)} = T_c(\lambda) + T_d(\lambda). \quad (53)$$

Nessa equação, $T_c(\lambda)$ é a transmitância colimada, $T_d(\lambda)$ a transmitância difusa e λ representa o comprimento de onda específico da luz incidida e transmitida (TUCHIN, 2015a).

A intensidade da luz que entra na esfera é medida como sendo o sinal obtido no detector multiplicado pela razão entre a área da superfície da esfera e a do detector. A acurácia de tais medidas depende desta razão. Além disso, a intensidade total da luz transmitida, $I_t(\lambda)$, pode ser representada por meio da Equação 54,

$$I_t(\lambda) = I_c(\lambda) + \int_{-\frac{\pi}{2}}^{\frac{\pi}{2}} I_f(\theta, \lambda) d\theta. \quad (54)$$

Nela, $I_c(\lambda)$ representa a quantidade de luz que atravessou a amostra de forma colimada e a integral de $I_f(\lambda)$ em relação a θ representa a quantidade de luz que atravessou a amostra depois de sofrer múltiplos espalhamentos aleatórios (TUCHIN, 2015a).

Outro parâmetro importante para obtenção de dados utilizando uma esfera integradora é a refletância difusa. Ela é definida como sendo a razão entre a intensidade de luz que é refletida de forma difusa na superfície da amostra, $I_b(\lambda)$, e a intensidade de luz que é incidida nela, $I_0(\lambda)$, ou seja, ela pode ser representada por meio da Equação 55,

$$R_d(\lambda) = \frac{I_b(\lambda)}{I_0(\lambda)}. \quad (55)$$

Neste caso, $I_b(\lambda)$ pode ser representada por meio da Equação 56,

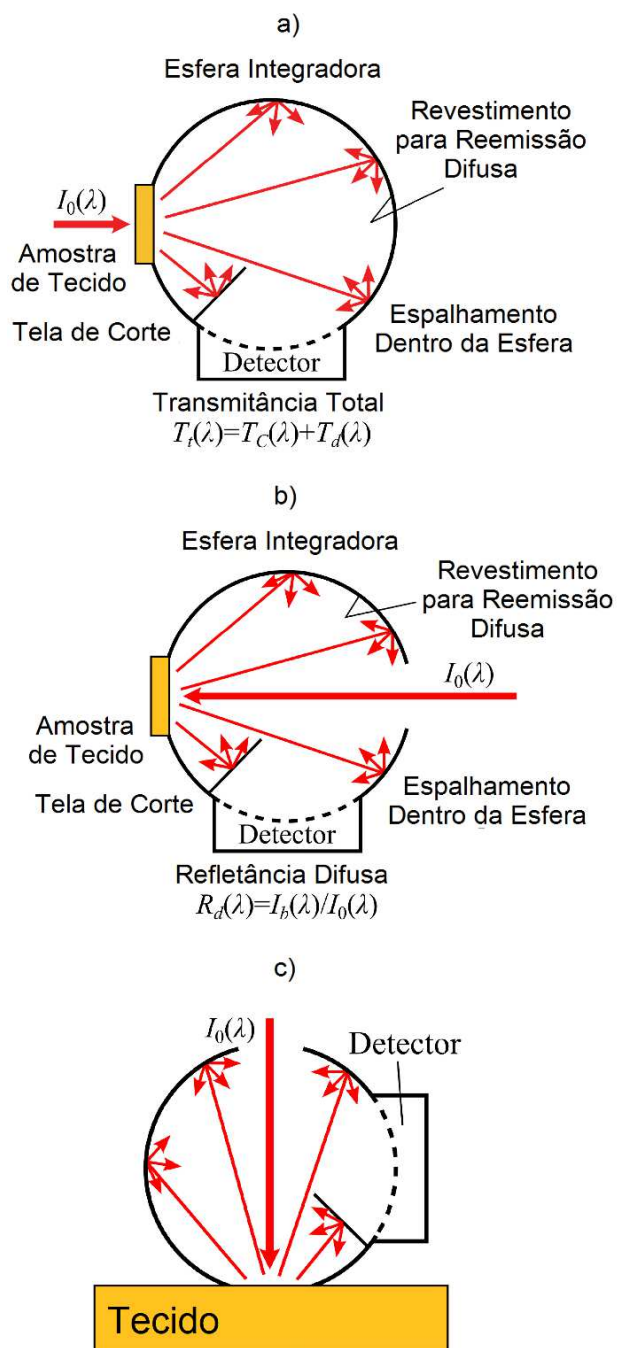
$$I_b(\lambda) = \int_{-\frac{\pi}{2}}^{\frac{\pi}{2}} I_b(\theta, \lambda) d\theta. \quad (56)$$

A integral de $I_b(\lambda)$ em relação a θ representa a quantidade de luz que é retroespalhada pela amostra (TUCHIN, 2015a).

Na Figura 40, estão representadas esquematicamente as principais geometrias de posicionamento de amostras para medição espectral utilizando uma esfera integradora. Para amostras *in vitro*, a transmitância total (Figura 40a) e refletância difusa (Figura 40b) são medidas por meio da detecção angular integrada. O processo de obtenção de medidas de refletância difusa em amostras *in vivo* é

semelhante ao processo *in vitro*, conforme pode ser observado na Figura 40c (TUCHIN, 2015a).

Figura 40 - Representações esquemáticas das principais geometrias de posicionamento de amostras para medição espectral utilizando uma esfera integradora. a) representação de uma medida de transmitância total em uma amostra *in vitro*; b) representação de uma medida de refletância difusa em uma amostra *in vitro*; e c) representação de uma medida de refletância difusa em uma amostra *in vivo*. Adaptado de Tuchin 2015a.



A superfície interna das esferas integradoras é revestida com um material não fluorescente. Normalmente ela é revestida com sulfato de bário (BaSO_4), óxido de magnésio (MgO) ou Spectralon®. Quando a luz incide na superfície destes

materiais, aproximadamente 100% dela é refletida de forma difusa dentro de todo espectro óptico e do infravermelho próximo (NIR) de interesse. Além disso, existem telas de corte para prevenir a irradiação direta do detector da esfera (TUCHIN, 2015a). Tanto o revestimento quanto a tela de corte, estão representados esquematicamente na Figura 40.

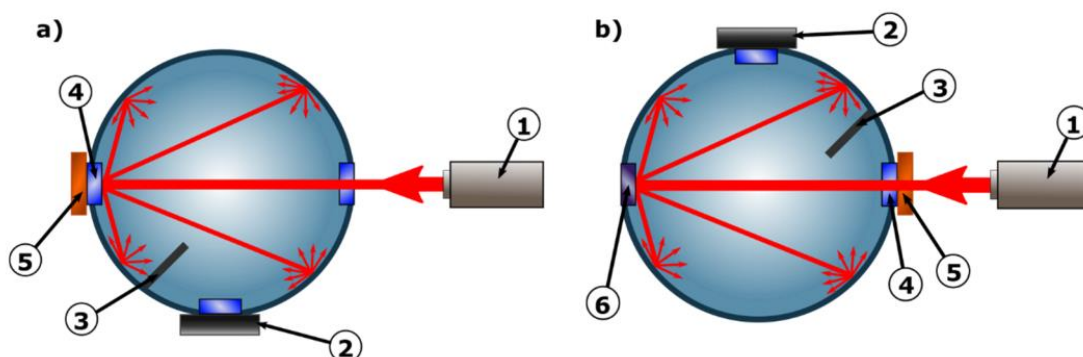
Neste trabalho, foi utilizada uma esfera integradora (IS200, Thorlabs Inc.) com dimensões externas de 61 x 61 x 65 mm, diâmetro interno de 2 polegadas e contendo quatro portas. A faixa de operação espectral dela se encontra entre 250 e 2500 nm. Para as medidas espectrais, ela foi acoplada a dois cabos de fibra óptica, uma lâmpada tungstênio-halogênio (HL-2000, Ocean Optics) e um espectrômetro (Jaz, Ocean Optics Inc.).

As amostras analisadas foram irradiadas utilizando a fonte de luz de tungstênio-halogênio, operada em uma tensão de 12 volts e cobrindo a faixa de comprimentos de onda entre 400 e 1000 nm. Uma lente de colimação foi posicionada entre a fonte de luz e a esfera integradora para colimar a luz da fonte e garantir que a divergência do feixe fosse mínima. Usando essa lente, o diâmetro do feixe na porta de entrada da esfera foi de aproximadamente 1 cm.

O sinal de saída, obtido no detector da esfera, foi capturado por meio de uma fibra óptica de 600 μm de diâmetro e conduzido ao espectrômetro de alta resolução. Com o espectrômetro conectado a um computador, foram medidos os espectros de refletância difusa e transmitância total das amostras. Posteriormente, os dados foram processados usando o software MATLAB e a técnica *Inverse Adding-Doubling* (IAD), que será discutida posteriormente.

Na Figura 41, está ilustrada uma representação esquemática da esfera integradora e seu princípio de funcionamento para medir as propriedades ópticas dos fantasmas utilizados no estudo. A Figura 41a ilustra uma medida de refletância difusa, enquanto a Figura 41b ilustra uma medida de transmitância total. Os principais componentes do sistema estão devidamente indicados e são representados por: 1) fonte de luz; 2) detector; 3) tela de corte; 4) porta onde a amostra é posicionada; 5) a amostra; e 6) porta plugada (fechada). Essa configuração é fundamental para as medições precisas das propriedades ópticas dos fantasmas durante o estudo.

Figura 41 – Estrutura básica de um sistema contendo uma esfera integradora para medição das propriedades ópticas de fantasmas. Na figura, a) representa a configuração para medição de refletância difusa e b) representa a configuração para medição de transmitância total. Além disso, estão representados os principais componentes do sistema, que são: 1) a fonte de luz; 2) o detector; 3) a tela de corte; 4) a porta onde a amostra é posicionada; 5) a amostra; e 6) a porta plugada (fechada). Adaptado de Listewnik et al. 2021.



4.2.2 Técnica IAD para obtenção dos parâmetros ópticos

A técnica *Inverse Adding-Doubling* (IAD) foi escolhida para realizar as medidas das propriedades ópticas dos fantasmas, juntamente com a esfera integradora, por ser rápida, possibilitar realização dos cálculos em microcomputadores e ser relativamente flexível para modelar o comportamento de amostras túrbidas. Com ela é possível calcular o espalhamento anisotrópico e reflexão interna até mesmo nas fronteiras do material analisado. Além disso, este método é adequado para solução de problemas iterativos porque possibilita calcular de forma precisa os valores totais de transmitância e refletância difusa, com relativamente poucos pontos de quadratura (PRAHL; VAN GEMERT; WELCH, 1993).

Esta técnica foi desenvolvida e disponibilizada por Prahl. Nela, um algoritmo permite determinar as propriedades ópticas (coeficientes de absorção e espalhamento reduzido) de fatias finas de amostras túrbidas por meio de medidas de transmitância total (T_t) e refletância difusa (R_d) da luz incidida nelas (PRAHL, 2017). O algoritmo é capaz de resolver repetidamente a Equação de Transferência Radiativa (RTE), na aproximação da difusão, até que as soluções coincidam com os valores de transmitância total (T_t) e refletância difusa (R_d) medidos experimentalmente (PRAHL; VAN GEMERT; WELCH, 1993).

O algoritmo consiste nos seguintes passos: 1) dar um chute inicial para o conjunto de propriedades ópticas do material; 2) calcular a transmitância total e refletância difusa por meio da RTE, na aproximação da difusão; 3) comparar os valores calculados com os valores medidos; e 4) ajustar os valores das propriedades ópticas e repetir todos os passos até que estes valores coincidam. Quando o conjunto de valores das propriedades ópticas geradas faz com que os valores calculados e medidos coincidam, eles são atribuídos como as propriedades do material analisado. Os resultados obtidos por esta técnica são precisos, mas podem ser ainda mais precisos se o tempo de computação for aumentado (PRAHL; VAN GEMERT; WELCH, 1993).

As propriedades ópticas que caracterizam um meio turbido e que são utilizadas nos cálculos são o coeficiente de absorção (μ_a), coeficiente de espalhamento (μ_s) e fator anisotrópico (g). O recíproco do coeficiente de absorção (ou de espalhamento) é o caminho livre médio de absorção (l_a) (ou de espalhamento, l_s). Estes valores representam a distância média que um fóton percorre, em um meio, até que ele seja absorvido ou espalhado (PRAHL; VAN GEMERT; WELCH, 1993; VO-DINH, 2015).

Outras duas propriedades ópticas que podem ser utilizadas para caracterizar a propagação de luz em um meio são o albedo (a) e o espessura óptica (τ). O albedo é definido por meio da Equação 57,

$$a = \frac{\mu_s}{\mu_s + \mu_a}, \quad (57)$$

e a espessura óptica é definida por meio da Equação 58:

$$\tau = d(\mu_a + \mu_s). \quad (58)$$

No qual, d é a espessura da amostra analisada (PRAHL; VAN GEMERT; WELCH, 1993).

O método IAD assume que a transmitância total $T_t(v, v')$ e refletância difusa $R_d(v, v')$ da luz incidida em um ângulo (v) e saída em um ângulo (v'), em uma camada fina de material, é conhecida. Com isso, os valores de transmitância total e refletância difusa, para uma camada que é duas vezes mais grossa que a anterior, são encontrados justapondo duas camadas idênticas e adicionado os valores de transmitância total e refletância difusa individuais de cada um. Para calcular estes parâmetros para uma camada de espessura arbitrária, basta primeiramente calcular os valores para uma camada fina inicial e, então, ir dobrando a espessura até que a

espessura desejada seja obtida. Este método também funciona para camadas que são diferentes entre si. Portanto, camadas com diferentes propriedades ópticas podem ser justapostas, para simular meios que possuem camadas ou reflexão interna causada por diferentes índices de refração (PRAHL; VAN GEMERT; WELCH, 1993).

Na realização dos cálculos, três medidas normalmente são realizadas: 1) a reflexão total; 2) transmitância total; e 3) transmitância colimada. O algoritmo assume que a reflexão não difusa de cada superfície é igual a reflexão de Fresnel para uma luz não polarizada incidente na amostra. A transmitância colimada pode ser representada por meio da Equação 59:

$$T_c = \frac{(1 - r_{s1})(1 - r_{s2})e^{-\tau}}{1 - r_{s1}r_{s2}e^{-2\tau}}. \quad (59)$$

No qual, r_{s1} e r_{s2} são as reflexões primárias da luz que incide nas superfícies frontal e traseira da camada analisada. Com a transmitância colimada é possível calcular imediatamente a espessura óptica (τ). Sabendo a espessura óptica, apenas o albedo (a) e o fator anisotrópico (g) restam para serem determinados. Por fim, estes parâmetros são variados até que os valores calculados de transmitância e refletância difusa coincidam com os valores medidos (PRAHL; VAN GEMERT; WELCH, 1993).

4.3 IMAGEM NO DOMÍNIO DA FREQUÊNCIA ESPACIAL (SFDI)

4.3.1 Geração de SFDIs

A geração de SFDIs consiste em projetar um padrão bidimensional de luz na amostra e analisar o efeito de espalhamento e absorção múltiplos no padrão de amplitude refletido ou transmitido em função da frequência espacial da luz incidida. Para facilitar a análise, a luz é modulada sinusoidalmente apenas na direção x ou y e é utilizado apenas uma frequência espacial por experimento (CUCCIA et al., 2009; GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019).

O espalhamento e absorção múltiplos, que ocorrem na amostra, causam uma diminuição na amplitude da onda senoidal projetada. A imagem de refletância desse padrão sinusoidal espalhado e absorvido é então capturada por uma câmera digital, e posteriormente processada. A variação da amplitude para cada pixel da imagem é calculada por meio de um processo chamado demodulação, que será discutido

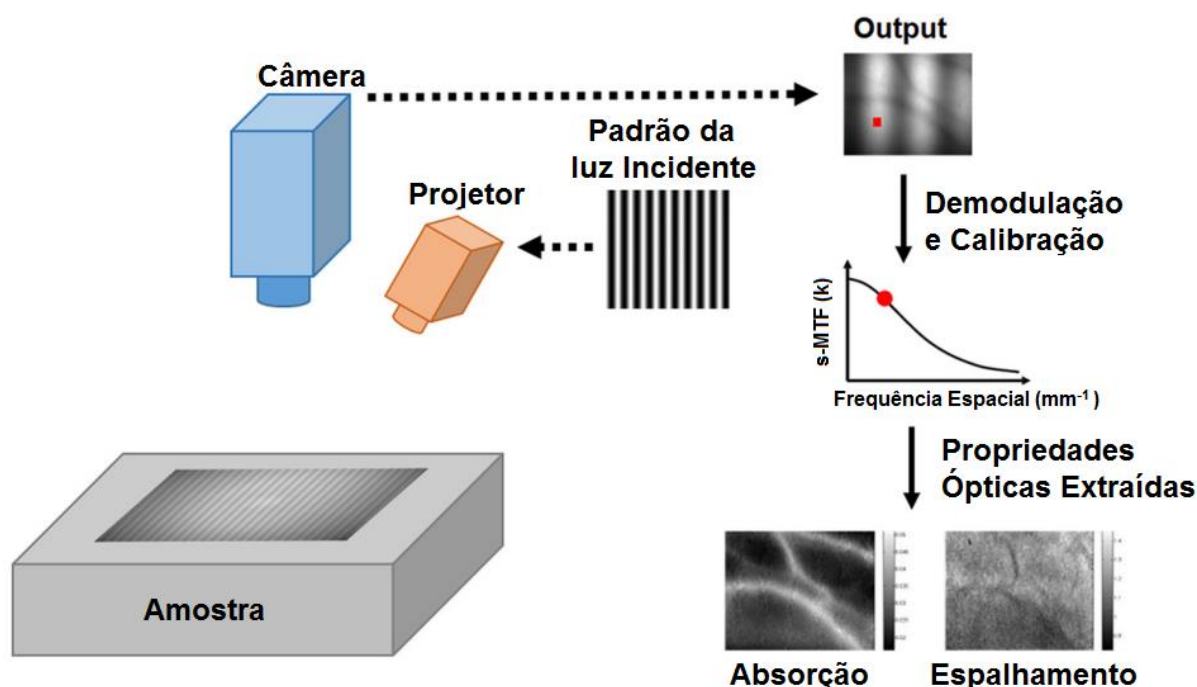
detalhadamente na próxima seção (CUCCIA et al., 2009; GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019).

Uma vez que o processo de demodulação foi realizado e as amplitudes de modulação foram medidas para diferentes frequências espaciais, é necessário determinar a contribuição do sistema óptico para a modulação do sinal obtido. Todos os componentes do sistema óptico possuem uma Função de Transferência de Modulação (MTF) associada e consequentemente contribuem para a MTF total do sistema (MTF_{SIS}). Para determinar a MTF_{SIS} , é necessário primeiramente determinar a amplitude de modulação de uma amostra turbida usada como referência e que possua propriedades ópticas conhecidas. Esse processo faz parte da calibração do sistema e permite a obtenção da MTF da amostra analisada ($MTF_{Amostra}$), que também é conhecida como refletância difusa (CUCCIA et al., 2009; GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019). O processo de calibração será discutido em mais detalhes posteriormente.

Posteriormente, este processo é repetido utilizando diferentes frequências espaciais da luz projetada na amostra. Pode-se também variar o comprimento de onda analisado acoplando um conjunto de filtros ópticos, com diferentes comprimentos de onda, ao sistema. Por fim, usando um modelo de propagação de luz, como a aproximação da difusão, as propriedades ópticas são extraídas para todos os pixels da imagem (CUCCIA et al., 2009; GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019). Uma representação esquemática do processo de geração das SFDIs está apresentada na Figura 42.

A técnica de SFDI permite extrair parâmetros com precisão, mesmo em situações em que a teoria de difusão não pode ser aplicada, ou seja, quando o coeficiente de espalhamento reduzido (μ_s') deixa de ser muito maior que o coeficiente de absorção (μ_a) (ERICKSON et al., 2010). Sob altas frequências, por exemplo, a aproximação da difusão não funciona e outros modelos, como o método Monte Carlo (MC), pode ser utilizado (ZONIOS; DIMOU, 2011).

Figura 42 – Representação esquemática do processo de geração de SFDIs. Durante o processo, um padrão de luz espacialmente modulado é projetado na amostra e a imagem de refletância difusa é capturada por uma câmera digital. Devido a efeitos de espalhamento e absorção múltiplos, a amplitude de modulação do padrão incidido é atenuado. A variação da amplitude de modulação é medida durante o processo de demodulação e a contribuição do sistema (MTF_{SIS}) e de outros ruídos referentes à atenuação são corrigidos durante o processo de calibração. O processo é repetido para diferentes frequências espaciais e as propriedades ópticas são obtidas utilizando um modelo de propagação da luz. Adaptado de Gioux, Mazhar e Cuccia 2019.



4.3.3 Demodulação

Como foi mencionado anteriormente, depois que a imagem da refletância do padrão sinusoidal espalhado e absorvido é capturada pela câmera digital, ela é processada. A variação da amplitude da luz incidida (causada por múltiplos eventos de absorção e espalhamento) é calculada por meio do processo de demodulação para cada pixel da imagem. Neste processo, a aquisição dos dados permite a medição da refletância difusa (R_d) a partir das múltiplas frequências espaciais projetadas (f_x) na amostra, e em todas as posições da imagem (x) (CUCCIA et al., 2009; GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019).

Os dados obtidos permitem a medição da amplitude de modulação do meio (M_{AC}), que posteriormente é relacionada com a refletância difusa (R_d), na etapa de calibração, através da separação da contribuição da MTF da amostra ($MTF_{Amostra}$)

daquela do sistema óptico (MTF_{SIS}) usado para realizar a aquisição dos dados. A M_{AC} , MTF_{SIS} e a refletância difusa (R_d) são relacionadas por meio da Equação 60,

$$M_{AC}(x, f_x) = I_0(x) \cdot MTF_{SIS}(x, f_x) \cdot R_d(x, f_x). \quad (60)$$

No qual, I_0 é a intensidade inicial da luz incidente na amostra (CUCCIA et al., 2009; GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019).

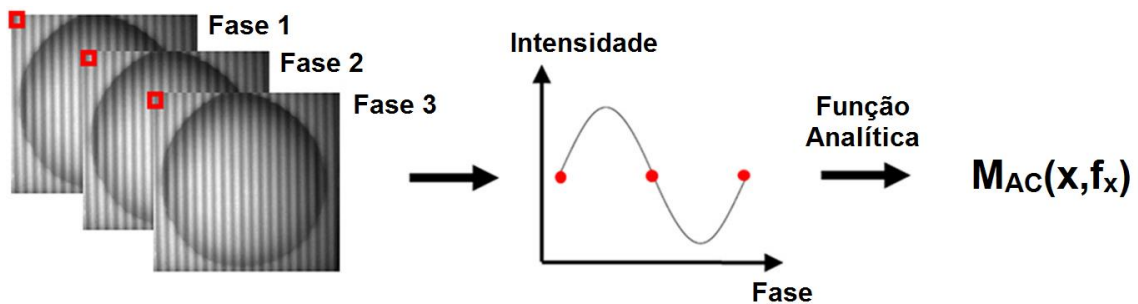
No caso em que a MTF de uma amostra túrbida é medida por meio da geometria de reflexão difusa da luz incidida, a iluminação deve ser a sobreposição da refletância espacialmente modulada (AC) e a planar (DC). Neste caso, a intensidade da luz refletida de forma difusa, I , será a soma dos componentes AC e DC, conforme representado na Equação 61,

$$I(x, f_x) = I_{DC}(x) + I_{AC}(x, f_x) = I_{DC}(x) + M_{AC}(x, f_x) \cos(2\pi f_x x + \alpha), \quad (61)$$

no qual, AC representa a componente espacialmente modulada e DC a planar (CUCCIA et al., 2009; GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019).

Para medir a amplitude de modulação do meio (M_{AC}), a luz é projetada na amostra utilizando diferentes frequências espaciais (f_x) e, para cada frequência espacial, ela é projetada em diferentes fases. Este método é chamado de demodulação de pixel individual, e utiliza vários quadros de dados adquiridos sequencialmente para extrair a M_{AC} . Nesse processo, cada pixel da imagem é caracterizado independentemente através da modulação da amplitude. Para deduzir a modulação da amplitude, a intensidade de cada pixel é analisada para imagens formadas em múltiplas fases, conforme esquematizado na Figura 43 (CUCCIA et al., 2009; GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019).

Figura 43 – Representação esquemática do método de demodulação de pixel individual. Este método utiliza vários quadros de dados adquiridos sequencialmente para extrair a M_{AC} . Adaptado de Gioux, Mazhar e Cuccia 2019.



A partir da demodulação de pixel individual, a função M_{AC} pode ser obtida utilizando, por exemplo, a projeção de três fases igualmente espaçadas de uma

onda senoidal ($a_i = 0, 2\pi/3$ e $4\pi/3$ radianos) modulada espacialmente com a mesma frequência espacial, conforme apresentado na Equação 62,

$$M_{AC}(x, f_x) = \frac{\sqrt{2}}{3} \{ [I(x, f_x, a_1) - I(x, f_x, a_2)]^2 + [I(x, f_x, a_2) - I(x, f_x, a_3)]^2 + [I(x, f_x, a_3) - I(x, f_x, a_1)]^2 \}^{1/2}. \quad (62)$$

É importante ressaltar que este procedimento é vantajoso, pois remove automaticamente quaisquer artefatos que são comuns a todas as três imagens (iluminação não uniforme, luz ambiente, ruído médio da imagem e compensação de digitalização). E, como ela não depende do conhecimento da frequência espacial, ela também pode remover erros de calibração (CUCCIA et al., 2009; GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019).

No caso especial em que desejamos obter a M_{AC} para a frequência espacial igual a zero, $f_x = 0 \text{ mm}^{-1}$ (chamado de M_{DC}), é feita uma aproximação na qual consideramos que a iluminação é planar. Este procedimento, entretanto, não remove automaticamente nenhum ruído. Portanto, é necessário levar em conta os ruídos obtidos no sistema de detecção. Neste caso, a amplitude de modulação planar (M_{DC}) pode ser calculada por meio da Equação 63 (GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019),

$$M_{DC}(x, f_x) = M_{AC}(x, f_x = 0) = \frac{1}{3} \{ I(x, f_x, a_1) + I(x, f_x, a_2) + I(x, f_x, a_3) \} - I_{DC, \text{ruído}}(x). \quad (63)$$

Neste trabalho, o processo de aquisição de dados foi realizado em cinco frequências espaciais (f_x) diferentes (0; 0,05; 0,1; 0,2 e 0,4 mm^{-1}) e, para cada frequência espacial, foram medidas três fases (a_i) diferentes (0, 120 e 240°). O processo foi realizado desta maneira porque é importante ter pelo menos duas frequências espaciais, uma baixa (0,1 mm^{-1}) e uma alta (0,4 mm^{-1}), por exemplo, para extrair propriedades ópticas abaixo da superfície.

4.3.4 Calibração

Depois que o processo de demodulação foi realizado para medir a amplitude de modulação do meio (M_{AC} , Equação 62) em diferentes frequências espaciais, o processo de calibração separa a contribuição da refletância difusa (R_d) da amostra e a MTF do sistema óptico (MTF_{SIS}) usado para realizar a aquisição dos dados. Embora a refletância difusa corresponda a função de transferência de modulação (MTF) da amostra turbida de interesse, a MTF_{SIS} e a intensidade de iluminação

devem ser medidas e corrigidas antes de medir a refletância (CUCCIA et al., 2009; GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019).

Para tal propósito, a amplitude de modulação de uma amostra túrbida com propriedades ópticas conhecidas (μ_a e μ_s') deve ser medida ($M_{AC, ref}$) e utilizada como referência. O valor esperado da refletância difusa da amostra utilizada como referência ($R_{d, ref}$) é calculado usando o modelo da aproximação da difusão e as propriedades ópticas da amostra. Sabendo o valor da intensidade inicial da luz incidida na amostra (I_0), podemos calcular a MTF_{SIS} do sistema óptico por meio da Equação 64 (CUCCIA et al., 2009; GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019),

$$I_0(x) \cdot MTF_{SIS}(x, f_x) = \frac{M_{AC, ref}(x, f_x)}{R_{d, ref}(x, f_x)}. \quad (64)$$

Com isso, utilizando o valor da refletância difusa de referência ($R_{d, ref}$), podemos calcular o valor da refletância difusa em cada posição espacial da amostra por meio da Equação 65,

$$R_d(x, f_x) = \frac{M_{AC}(x, f_x)}{M_{AC, ref}(x, f_x)} \cdot R_{d, ref}(x, f_x). \quad (65)$$

Depois que a calibração é realizada, o fator de calibração é utilizado em todas as aquisições posteriores, corrigindo ruídos e deformidades provenientes da instrumentação (CUCCIA et al., 2009; GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019).

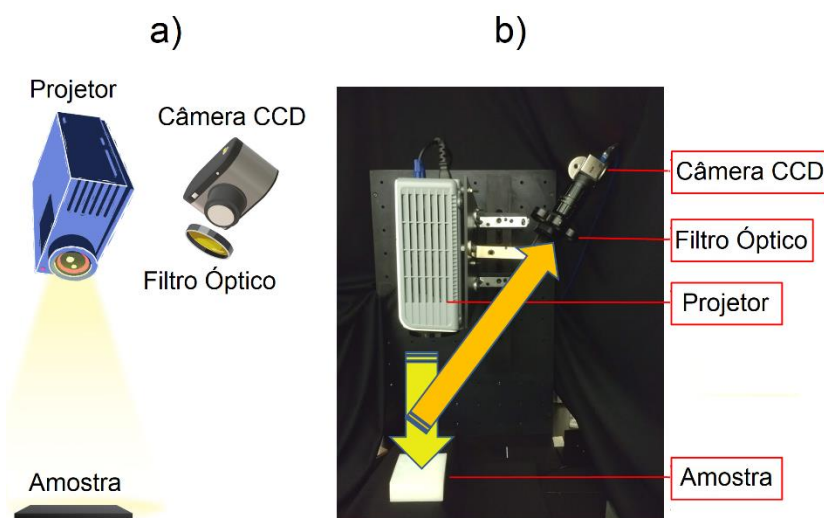
4.3.2 Aparato experimental do sistema SFDI

Neste trabalho, o aparato experimental utilizado para a realização das SFDIs consistiu de: a) uma lâmpada (190W/160W - Normal/Eco Mode, Vivitek); b) um projetor de luz (D555WH, Vivitek) para projetar o padrão bidimensional de luz na amostra; c) uma câmera CCD (DCC3240C USB 3.0 Digital Camera, Thorlabs Inc.), com 1280 x 1024 pixels, acoplada à uma lente de distância focal fixa (59873 50mm F2.0 Compact Industrial C-Mount, Edmund Optics); d) e uma roda de filtros (CFW6, Thorlabs Inc.) contendo cinco filtros ópticos passa-faixa. Todos estes componentes foram montados em uma placa metálica, formando o sistema para realização das SFDIs, conforme ilustrado na Figura 44.

O projetor utilizado produz uma iluminação de "luz branca", que abrange uma ampla gama de comprimentos de onda na amostra. Por esse motivo, foram utilizados filtros ópticos de interferência para a realização de medições em faixas estreitas de comprimento de onda. Os filtros que compõe o equipamento

apresentam interferência passa-faixa, no qual, os comprimentos de onda centrais são 457, 488, 532, 580 e 650 nm.

Figura 44 - a) Representação esquemática do aparato experimental. b) Fotografia do aparato utilizado para a realização das SFDIs. Ele consiste em uma fonte de luz, um projetor, uma câmera CCD de 1280 x 1024 pixels e uma base giratória composta por cinco filtros ópticos.



Padrões de iluminação em escala de cinza foram gerados usando a fonte de luz em combinação com um modulador espacial de luz. O modulador foi acoplado na saída da fonte da luz, conectado por meio de uma fibra óptica ao Dispositivo Digital de Microespelhos (DMD, do inglês *Digital Micromirror Device*) do equipamento, que está localizado dentro do projetor e tem a função de modular a luz projetada na amostra.

4.3.5 Determinação dos parâmetros ópticos

Para um dado valor de amplitude de modulação, existem dois parâmetros, μ_a e μ'_s , que podem ser determinados por meio da Equação 32, discutida anteriormente. Essa equação descreve como é possível utilizar a equação de difusão independente do tempo para definir a refletância difusa (R_d). Uma forma rápida de medir estes parâmetros é utilizando uma tabela de consulta (LUT, do inglês *lookup table*) contendo duas frequências espaciais (CUCCIA et al., 2009; GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019). Este método permite um processamento rápido, preciso e com amplo campo de visão, e, por isso, vem sendo utilizado em diversas pesquisas (DENG et al., 2020; GRAF; PAPP; LANG, 2020; HELTON; MYCEK; VISHWANATH, 2020). Entretanto, é importante ressaltar que, sob altas frequências espaciais, a

aproximação da difusão não funciona e outros modelos, como o método Monte Carlo (MC), devem ser utilizados (ZONIOS; DIMOU, 2011).

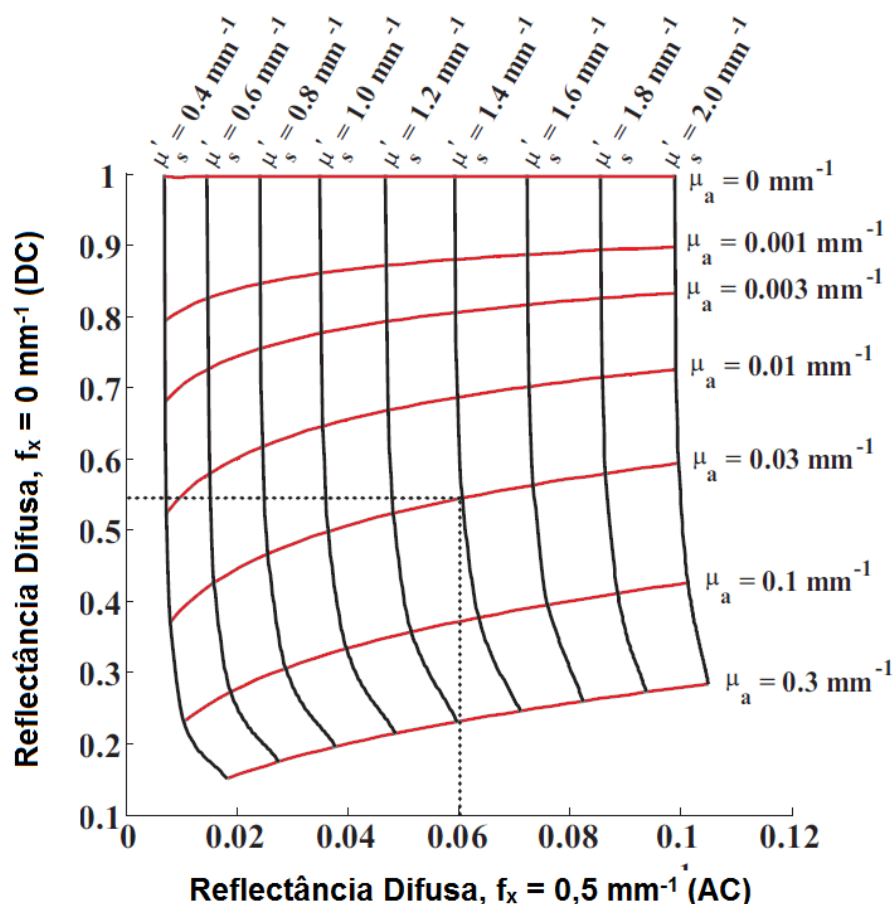
As LUTs podem ser construídas de duas maneiras: 1) utilizando dados experimentais de fantasmas com propriedades ópticas conhecidas; ou 2) utilizando simulações de Monte Carlo. Tais métodos permitem a conexão direta entre uma medida de refletância difusa em frequências espaciais conhecidas, com a obtenção de valores das propriedades ópticas (μ_a e μ'_s) (ANGELO et al., 2016; CUCCIA et al., 2009; HENNESSY et al., 2013).

A vantagem de criar LUTs por meio de dados experimentais está no fato de que é possível incorporar respostas desconhecidas ao sistema. Entretanto, este método consome muito tempo porque é necessário a preparação de diversos fantasmas. Além disso, a precisão dessas tabelas irá depender da habilidade e experiência de quem as preparou. Simulações de Monte Carlo são extremamente úteis, pois permitem a modelação de geometrias de ponta de prova complexas e estruturas de tecidos. Entretanto, este método requer um tempo muito grande de computação para que LUTs com milhares de valores com variância desejável sejam obtidos (HENNESSY et al., 2013).

Na aplicação da técnica SFDI, medidas com múltiplas frequências espaciais e múltiplas fases, podem melhorar os ajustes do modelo. Entretanto, este procedimento aumenta o tempo de aquisição e processamento de dados. Por isso, normalmente, na criação de LUTs utilizando simulações MC, utilizam-se somente duas frequências espaciais. Isto permite que sejam obtidas medidas com precisão e processamento rápido (GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019).

Como foi mencionado anteriormente, medidas com apenas duas frequências espaciais podem ser utilizadas para medir os parâmetros μ_a e μ'_s . Um exemplo de como isto pode ser obtido a partir de uma LUT está ilustrado esquematicamente na Figura 45. Nela, as refletâncias difusas DC e AC correspondem às medidas de R_d , no qual, as frequências espaciais (f_x) são respectivamente 0 e $0,5 \text{ mm}^{-1}$. Os contornos vermelhos representam os valores constantes de coeficientes de absorção (μ_a) e os contornos pretos os de espalhamento reduzido (μ'_s). Como um exemplo ilustrativo, as linhas pontilhadas verticalmente e horizontalmente representam os valores obtidos de $R_d(AC) = 0,06$ e $R_d(DC) = 0,55$, respectivamente. Portanto, para estes valores obtidos de refletância difusa AC e DC, $\mu_a = 0,03 \text{ mm}^{-1}$ e $\mu'_s = 1,4 \text{ mm}^{-1}$ (CUCCIA et al., 2009).

Figura 45 – Representação esquemática de uma LUT utilizada para determinação dos parâmetros μ_a e μ_s' , a partir da técnica SFDI. Nessa representação foram utilizadas duas frequências espaciais, $f_x = 0 \text{ mm}^{-1}$ e $f_x = 0,5 \text{ mm}^{-1}$. Os contornos vermelhos representam valores constantes de diferentes coeficientes de absorção (μ_a) e os contornos pretos os de espalhamento reduzido (μ_s'). As linhas pontilhadas, verticalmente e horizontalmente, indicam como o método LUT é utilizado para obter os parâmetros ópticos (μ_a e μ_s') por meio das refletâncias difusas. Adaptado de Cuccia et al. 2009.



As medidas AC e DC podem ser facilmente obtidas com apenas três diferentes fases de projeção para cada frequência espacial utilizada, a partir das Equações 44 e 45. Isto permite, juntamente com a LUT, que a aquisição de dados seja rápida e mapas de absorção e espalhamento reduzido possuam alta resolução (CUCCIA et al., 2009).

4.4 MODELO PARA SIMULAÇÃO ÓPTICA DO TECIDO DA PELE

4.4.1 Simulação de parâmetros ópticos do tecido da pele

As propriedades ópticas do tecido da pele humana estão intrinsecamente ligadas à sua composição e podem ser quantitativamente definidas pelos coeficientes de absorção e espalhamento reduzido (JACQUES, 2013). Estes parâmetros descrevem as interações dos fótons com o tecido e influenciam o

comportamento dos feixes de luz transmitidos ou refletidos por ele (TSUI et al., 2018). Semelhante ao que foi proposto por Wirkert et al., no escopo deste estudo, o tecido da pele foi modelado considerando a oxihemoglobina (HbO_2) e a desoxihemoglobina (Hb) como os principais agentes absorvedores de luz nesse meio (WIRKERT et al., 2016).

De acordo com a proposta de Tabassum et al., o valor de $\mu_a(\lambda)$ para a pele em um comprimento de onda de luz específico, λ , pode ser calculado por meio da Equação 66,

$$\mu_a(\lambda) = \ln(10)[C_{\text{oxi}}\epsilon_{\text{oxi}}(\lambda) + C_{\text{deoxi}}\epsilon_{\text{deoxi}}(\lambda)], \quad (66)$$

no qual $\epsilon_{\text{oxi}}(\lambda)$ e $\epsilon_{\text{deoxi}}(\lambda)$ representam os coeficientes de extinção da oxihemoglobina e da desoxihemoglobina, respectivamente, expressos em unidades de $\text{cm}^{-1}/\text{mol}$. Além disso, C_{oxi} e C_{deoxi} representam as concentrações correspondentes de cada cromóforo expressas em unidades de concentração molar (M) (TABASSUM et al., 2016). Para este estudo, os valores de $\epsilon_{\text{oxi}}(\lambda)$ e $\epsilon_{\text{deoxi}}(\lambda)$ utilizados foram obtidos a partir dos dados compilados por Jacques e Prahl (GONÇALVES et al., 2024; PRAHL; JACQUES, 1999).

Com o objetivo de simular parâmetros correspondentes a tecidos reais, foram realizadas variações nas concentrações de oxihemoglobina e desoxihemoglobina dentro de uma faixa fisiológica ampla, que abrangeu de 1 a 300 μM (JACQUES, 2013). Além disso, o coeficiente de espalhamento reduzido (μ_s') foi ajustado considerando os limites estabelecidos na literatura para tecidos humanos, ou seja, variando entre 0,5 e 2,0 mm^{-1} (LISTER; WRIGHT; CHAPPELL, 2012; ZHAO et al., 2021). A fim de modelar diferentes composições possíveis desses cromóforos na pele, as amostras foram organizadas utilizando uma abordagem de permutação completa (GONÇALVES et al., 2024; ZHAO et al., 2021).

4.4.2 Princípios para medição da saturação de oxigênio no sangue

A saturação de oxigênio no sangue (SpO_2) é uma medida da quantidade de moléculas oxigênio ligadas quimicamente a moléculas de hemoglobina presentes no sangue. É possível definir a SpO_2 matematicamente como sendo a razão entre as concentrações de oxihemoglobina (HbO_2) e hemoglobina total. Com isso, ela pode ser representada por meio da Equação 67,

$$\text{SpO}_2(\%) = \frac{[\text{HbO}_2]}{[\text{HbO}_2] + [\text{Hb}]} \times 100\%. \quad (67)$$

No qual, $[HbO_2]$ é a concentração de oxihemoglobina e $[Hb]$ a de desoxihemoglobina (AL-NAJI et al., 2021; ALHARBI et al., 2019; KONG et al., 2013).

De acordo com a lei de Beer-Lambert, representada anteriormente na Equação 9, a transmissão da luz em um meio decai exponencialmente em relação ao comprimento do caminho óptico e ao coeficiente de absorção do meio (ALHARBI et al., 2019; LU, 2016; VO-DINH, 2015). Vale ressaltar que, no tecido biológico, a absorção da luz é diferente durante os períodos de relaxamento (diástole) e contração (sístole) muscular do músculo cardíaco. As diferenças de absorção durante esses dois períodos podem ser expressas respectivamente pelas Equações 68 e 69,

$$I_{d,\lambda} = I_{0,\lambda} e^{-\mu_a(\lambda)z_{\lambda,\min}}, \quad (68)$$

$$I_{s,\lambda} = I_{0,\lambda} e^{-\mu_a(\lambda)z_{\lambda,\max}}. \quad (69)$$

Nelas, I_d e I_s representam a intensidade da luz transmitida durante o período de diástole e sístole, respectivamente, I_0 é a intensidade de luz incidente, μ_a é o coeficiente de absorção do meio, λ é o comprimento de onda da luz incidente e $z_{\min}$ e $z_{\max}$ são os comprimentos dos respectivos caminhos ópticos (ALHARBI et al., 2019).

Tomando o logaritmo da razão entre a intensidade de luz transmitida durante o período de diástole e sístole, e assumindo que o coeficiente de absorção é conhecido, é possível determinar a diferença entre os caminhos ópticos por meio da Equação 70,

$$\ln\left(\frac{I_{d,\lambda}}{I_{s,\lambda}}\right) = -\mu_a(\lambda)(z_{\lambda,\max} - z_{\lambda,\min}) = -\mu_a(\lambda)\Delta z_{\lambda}. \quad (70)$$

Essa equação também representa a variação da transmitância arterial em relação à luz incidente. Calculando a razão entre a variação da transmitância arterial para dois comprimentos de onda diferentes, podemos definir um parâmetro chamado de taxa de absorção. Este parâmetro pode ser representado por meio da Equação 71 (ALHARBI et al., 2019),

$$R = \frac{\ln\left(\frac{I_{d,\lambda_1}}{I_{s,\lambda_1}}\right)}{\ln\left(\frac{I_{d,\lambda_2}}{I_{s,\lambda_2}}\right)} = \frac{\mu_a(\lambda_1)\Delta z_{\lambda_1}}{\mu_a(\lambda_2)\Delta z_{\lambda_2}}. \quad (71)$$

Ao calcular a taxa de absorção (R), podemos assumir que a luz incidente das duas fontes de iluminação (λ_1 e λ_2) são incididas na mesma posição em uma

amostra qualquer. Com isso, os comprimentos dos caminhos ópticos, devido a estes feixes, serão aproximadamente iguais ($\Delta z_{\lambda_1} \approx \Delta z_{\lambda_2}$). Os comprimentos dos caminhos ópticos dos feixes que retornam e chegam ao detector também devem ser similares e, por meio desta aproximação, a taxa de absorção dependerá principalmente dos coeficientes de absorção do meio em relação aos comprimentos de onda dos feixes incididos, $\mu_a(\lambda_i)$. Portanto, a taxa de absorção poderá ser representada por meio da Equação 72 (ALHARBI et al., 2019; KONG et al., 2013),

$$R = \frac{\mu_a(\lambda_1)}{\mu_a(\lambda_2)}. \quad (72)$$

A SpO_2 também pode ser obtida a partir de sinais obtidos de dois comprimentos de onda distintos (λ_1 e λ_2), os quais são adquiridos de componentes modulados (AC) e planares (DC) da luz transmitida (ou refletida) em uma amostra. Essa abordagem permite que a taxa de absorção (R) possa ser expressa por meio da Equação 73,

$$R = \frac{\left(\frac{I_{AC}}{I_{DC}}\right)_{\lambda_1}}{\left(\frac{I_{AC}}{I_{DC}}\right)_{\lambda_2}}, \quad (73)$$

no qual, I_{AC} e I_{DC} denotam, respectivamente, as intensidades da luz nos componentes AC e DC transmitidos (ou refletidos) nos comprimentos de onda λ_1 e λ_2 . Por fim, a SpO_2 pode ser representada pela Equação 74,

$$SpO_2 = A - BR. \quad (74)$$

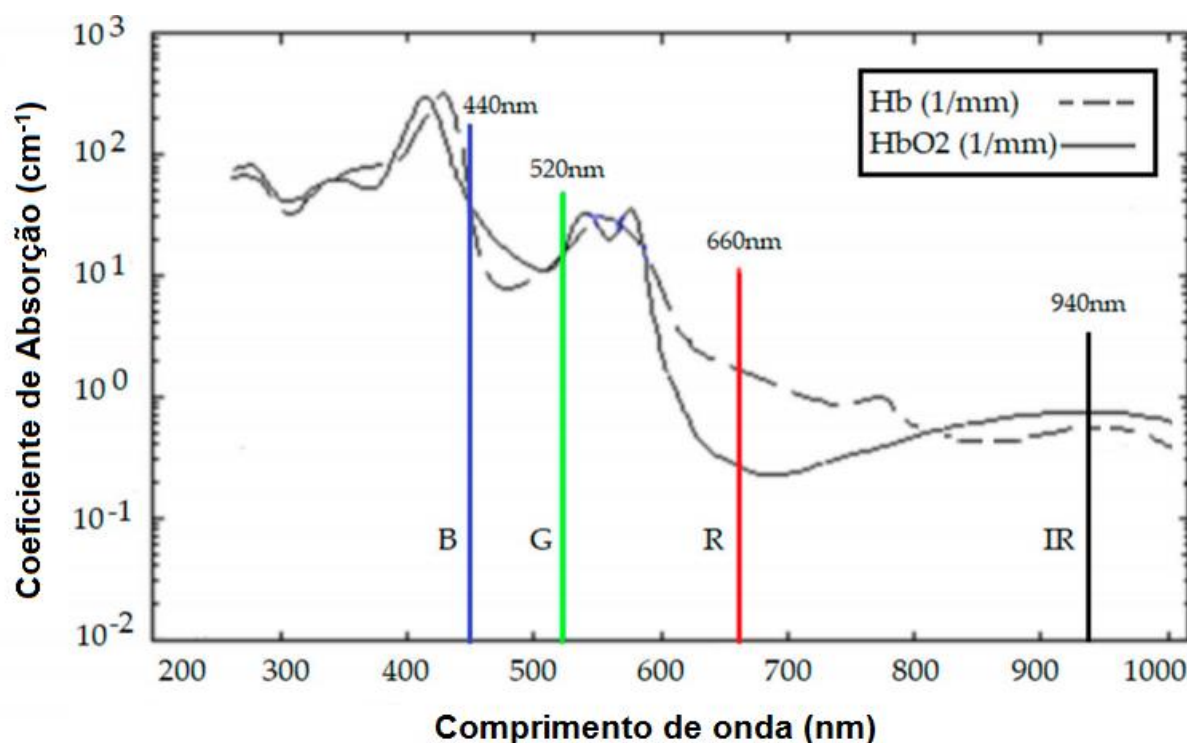
No qual, A e B são coeficientes empíricos que podem ser obtidos por calibração (ALHARBI et al., 2019; KONG et al., 2013; TARASSENKO et al., 2014).

Com isso, para medir a SpO_2 , é necessário que seja incidido na amostra feixes de luz com dois comprimentos de onda diferentes (λ_1 e λ_2), para assim determinar a transmitância máxima ou a intensidade da reflexão deles. Para fazer uma boa estimativa da SpO_2 , também é importante que os coeficientes de absorção da HbO_2 e da Hb difiram significativamente em um dos comprimentos de onda e sejam aproximadamente iguais no outro. Como pode ser observado na Figura 46, feixes de luz nos comprimentos de onda de 440 e 520 nm podem formar pares com o de 660 nm (AL-NAJI et al., 2021; KONG et al., 2013).

Embora os coeficientes de absorção da HbO_2 e da Hb sejam aproximadamente iguais em 440 nm, ambos apresentam uma taxa de variação muito elevada nessa região do espectro, tornando-a inadequada para medidas de

SpO₂. Por outro lado, no comprimento de onda de 520 nm, além dos coeficientes de absorção serem semelhantes, as curvas de absorção nesta região variam de forma mais moderada, tornando-o ideal para medidas de SpO₂ (KONG et al., 2013). Em vista disso, neste trabalho foram escolhidos os comprimentos de onda de 532 e 650 nm para as medidas de SpO₂. Esses dois comprimentos de onda se adequam bem ao conceito discutido anteriormente e, entre os filtros disponíveis no equipamento SFDI, são os mais adequados para a medição de SpO₂.

Figura 46 - Espectro de absorção da oxihemoglobina (HbO₂) e desoxihemoglobina (Hb). Este espectro está na região entre o visível e o infravermelho próximo. Adaptado de Al-Naji et al. 2021.



4.5 PRÉ-PROCESSAMENTO DOS DADOS PARA O TREINAMENTO DA REDE NEURAL ARTIFICIAL

4.5.1 Criação de um banco de dados de refletância difusa

Um dos requisitos essenciais para o processo de treinamento de uma rede neural artificial (RNA) é dispor de um conjunto de dados suficientemente grande para treinar o modelo com eficácia. Em outras palavras, o modelo de RNA precisa ser exposto a uma ampla variedade de dados para "aprender" o máximo possível antes de ser aplicado na previsão de uma grandeza específica. No entanto, usar dados experimentais pode ser complicado, principalmente devido ao tempo

necessário para preparar amostras e ao custo associado à coleta desses dados (SANG et al., 2021).

Uma solução alternativa adequada é utilizar dados simulados para treinar o modelo de RNA. Neste trabalho, dados de simulações Monte Carlo (MC) foram empregados para esse fim. A vantagem de usar dados simulados é que eles podem ser gerados em grande quantidade, representando uma ampla gama de cenários e variáveis, sem os desafios logísticos dos experimentos físicos. Dessa forma, o modelo de RNA pode ser treinado de maneira eficiente, aprendendo com uma base de dados robusta e generalizada, antes de ser aplicado à previsão de propriedades ópticas de tecidos, por exemplo.

Para obter valores de refletância difusa (R_d) para diferentes combinações de coeficientes de absorção e espalhamento reduzido (μ_a e μ_s'), foram utilizadas simulações MC para o transporte de luz no tecido. Essas simulações oferecem uma abordagem flexível e rigorosa para modelar o transporte de luz em meios túrbidos, como os tecidos biológicos. O método MC baseia-se em um modelo estocástico, onde se utiliza uma distribuição probabilística para determinar as trajetórias dos fótons em interação com o meio. Esse modelo matemático gera uma distribuição de soluções baseada em probabilidades, e o valor esperado de uma variável aleatória (ou a combinação de várias variáveis) aproxima-se de uma quantidade física a ser determinada (WANG; JACQUES; ZHENG, 1995).

O valor esperado é estimado pela média de múltiplas amostras independentes, representando as diferentes trajetórias que os fótons podem seguir. Para garantir a independência dessas amostras, são utilizados números aleatórios que seguem a distribuição da variável de interesse, garantindo que o comportamento estatístico da luz em tecidos biológicos seja bem representado pela simulação (WANG; JACQUES; ZHENG, 1995). Esse método é amplamente utilizado em óptica biomédica para estudar a interação da luz com os tecidos, incluindo absorção, espalhamento e reflexão (DENG et al., 2020; GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019; HELTON; MYCEK; VISHWANATH, 2020; HENNESSY et al., 2013; TSUI et al., 2018; WIRKERT et al., 2016; ZONIOS; DIMOU, 2011).

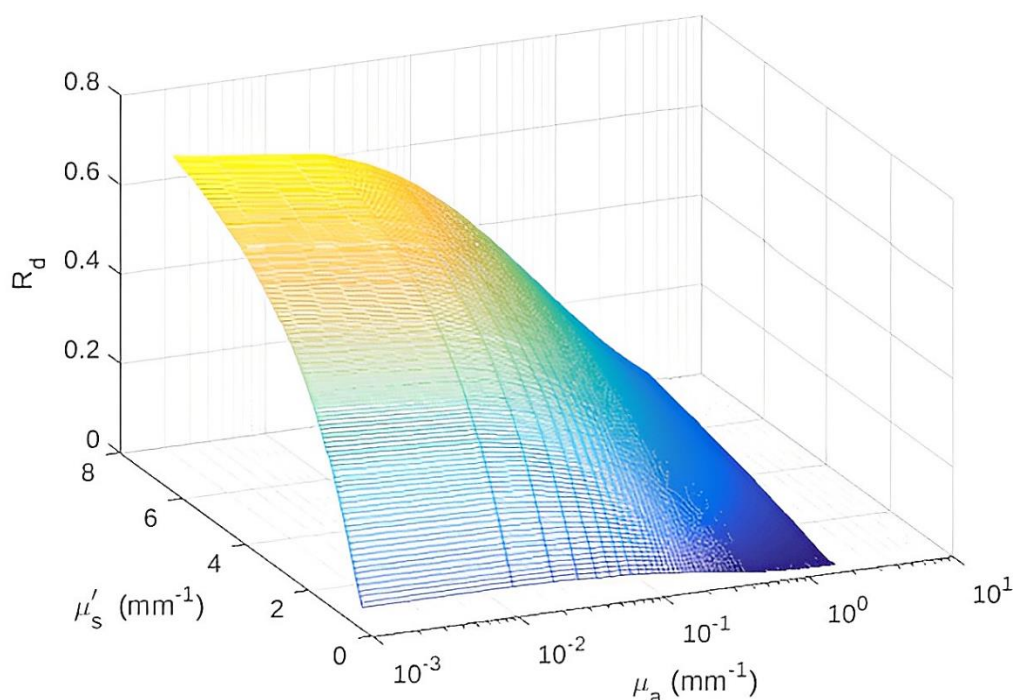
Neste trabalho, utilizamos um código MC baseado na metodologia proposta por Wang, Jacques e Zheng. A simulação consistiu em incidir perpendicularmente um feixe de fótons na superfície de um meio homogêneo com quatro parâmetros característicos: coeficiente de absorção, coeficiente de espalhamento reduzido,

índice de refração (n) e fator de anisotropia (g) (GONÇALVES et al., 2024; WANG; JACQUES; ZHENG, 1995). O objetivo central da simulação foi obter a distribuição espacial dos fótons retroespalhados realizando uma análise por meio da função de dispersão de pontos (PSF) (GONÇALVES et al., 2024).

Em seguida, os valores de refletância difusa (R_d) correspondentes a diferentes frequências espaciais foram obtidos aplicando uma transformada de Fourier na PSF (BARMAN et al., 2011; CUCCIA et al., 2009). A partir disso, foram coletados valores de R_d em frequências espaciais específicas, incluindo 0, 0,05, 0,1, 0,2 e 0,4 mm^{-1} , para várias combinações de μ_a e μ_s' dentro do intervalo de $0,001 \leq \mu_a \leq 2,0 \text{ mm}^{-1}$ e $0,5 \leq \mu_s' \leq 2,0 \text{ mm}^{-1}$. Esse banco de dados foi gerado com o intuito de utilizá-lo para o treinamento da RNA e para a medição de saturação de oxigênio no sangue (GONÇALVES et al., 2024).

Os cálculos foram realizados considerando um valor fixo de n igual a 1,4 e g igual a 0,7, que são parâmetros típicos de tecidos biológicos (YUDOVSKY; DURKIN, 2011). Ao final das simulações, foi gerado um banco de dados com um total de 850500 amostras, cada uma representando valores de R_d em diferentes frequências espaciais e com uma combinação específica de μ_a e μ_s' . Como ilustração de um dos resultados obtidos durante o treinamento da RNA, na Figura 47 está apresentado um gráfico de superfície que mostra valores de R_d na frequência espacial de 0,1 mm^{-1} em função de μ_a e μ_s' . Esses resultados demonstram a influência desses parâmetros nas propriedades de refletância difusa do tecido simulado (GONÇALVES et al., 2024).

Figura 47 - Gráfico de superfície dos valores de R_d na frequência espacial de $0,1 \text{ mm}^{-1}$ em função de μ_a e μ_s' . Fonte: (GONÇALVES et al., 2024).



4.5.2 Pré-processamento dos dados

Devido à grande dimensão dos dados obtidos, a análise computacional por meio da rede neural artificial se tornou computacionalmente lenta e complexa. Para mitigar esse problema, foi utilizada a técnica de Análise de Componentes Principais (ACP), que é um método estatístico multivariado para redução da dimensionalidade de dados. Essa técnica é baseada na construção de componentes principais, que são novas variáveis formadas como combinações lineares ou misturas das variáveis originais, maximizando a variância dos dados (ABDI; WILLIAMS, 2010; GONÇALVES et al., 2024).

Nesse contexto, aplicamos a ACP para reduzir a dimensionalidade do conjunto de dados. Para cada comprimento de onda, calculamos cada componente principal, representada por y_i , como uma combinação linear dos cinco valores de R_d (um para cada frequência espacial). Isso resultou em cinco componentes principais no total. Com isso, foi identificado que os dois primeiros componentes principais representaram 99,9% da variância total do banco de dados e, portanto, foram utilizados no modelo gerado. A partir de um sistema de pontuações (também conhecido como *scores*) para cada amostra nos dois primeiros componentes principais, foi obtido um novo conjunto de dados composto por apenas dois

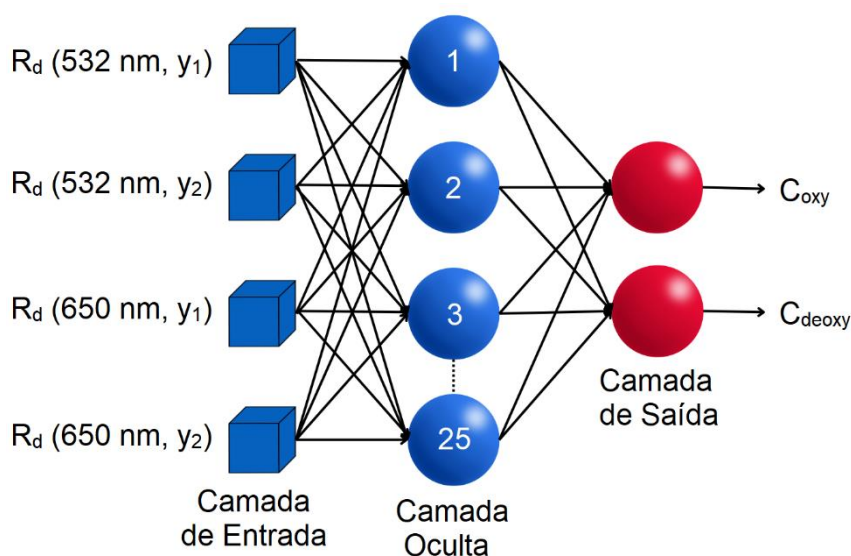
componentes para cada comprimento de onda. Essa abordagem de redução da dimensionalidade facilitou o processo de treinamento da rede neural, tornando-o mais computacionalmente viável (GONÇALVES et al., 2024).

Além disso, foi adotada uma técnica de normalização min-max, como um método de escalonamento de recursos. Essa abordagem envolveu o redimensionamento dos valores das amostras para cada componente principal (y_i) dentro do intervalo entre zero e um. A aplicação desse processo de normalização foi realizada com o intuito de melhorar a precisão do aprendizado de máquina (BISHOP, 1996; GONÇALVES et al., 2024; SHANKER; HU; HUNG, 1996).

4.5.3 Treinamento e teste da rede neural artificial

Uma vez que o banco de dados foi criado e pré-processado, o próximo passo foi o treinamento da rede neural artificial. Foram investigadas diferentes arquiteturas de rede neural artificial, variando o número de camadas ocultas e neurônios em cada camada. Neste estudo, optou-se por adotar uma arquitetura de rede neural artificial do tipo *feedforward*, contendo uma camada oculta com vinte e cinco neurônios (FREDRIKSSON; LARSSON; STRÖMBERG, 2020). Na Figura 48 está apresentado uma representação esquemática da rede neural artificial utilizada (GONÇALVES et al., 2024).

Figura 48 - Representação esquemática da rede neural artificial utilizada no estudo. Os primeiros e segundos componentes principais da Análise de Componentes Principais (ACP) foram utilizados como valores de entrada na rede e os valores de saída são as concentrações de HbO_2 e Hb (C_{oxi} e C_{deoxy} , respectivamente).



Na camada de entrada, os dados consistiram em valores de refletância difusa dos dois primeiros componentes principais pontuados em cada comprimento de onda. A camada de saída retornou as concentrações de C_{oxy} e C_{deoxy} . A função de ativação empregada na camada oculta foi a tangente hiperbólica, enquanto na camada de saída, foi utilizada a função de transferência linear (GONÇALVES et al., 2024).

Para garantir a generalização do modelo e evitar sobreajuste, os valores do banco de dados foram divididos entre conjuntos de treinamento, validação e teste, com proporções de 70, 15 e 15%, respectivamente. Além disso, a fim de tornar o modelo mais robusto, foi aplicado um ruído gaussiano de 3% aos valores de entrada nos conjuntos de teste e validação (GONÇALVES et al., 2024).

Foi utilizado a retropropagação com regularização Bayesiana para ajustar os pesos e viés durante o treinamento, empregando a otimização de Levenberg-Marquardt como técnica de otimização. O erro quadrático médio foi adotado como função de erro para guiar o processo de treinamento (BURDEN; WINKLER, 2008). Como critério de parada, foi estabelecido 2000 períodos de treinamento ou um valor de erro quadrático médio de 10^{-6} . Assim que um dos critérios fosse atingido, o processo de treinamento era encerrado (GONÇALVES et al., 2024).

4.6 ESTUDO *IN VIVO*

Com o objetivo de avaliar a viabilidade do modelo proposto, foi realizado um estudo *in vivo* na região dorsal da mão de um voluntário do sexo masculino. Para isso, a mão dele foi cuidadosamente posicionada no sistema de imagem SFDI para a aquisição das imagens e, posteriormente, a rede neural artificial foi empregada para calcular diretamente as concentrações de oxihemoglobina, desoxihemoglobina e SpO_2 , a partir dos sinais medidos. Cabe destacar que o estudo *in vivo* em seres humanos foi devidamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Uberlândia (processo nº 85363417.9.0000.5152).

4.6 OBSERVAÇÕES

O projetor de luz utilizado no equipamento SFDI para medições *in vivo* emite uma iluminação de "luz branca," que abrange uma ampla gama de comprimentos de onda, variando entre o visível (450 a 650 nanômetros) e o infravermelho (650 a 1000

nanômetros), com uma potência óptica inferior a 10 watts/m². Essa potência é consideravelmente menor do que a da luz solar em um dia ensolarado, que chega a aproximadamente 1000 watts/m² (MICHAEL; JOHNSTON; MORENO, 2020).

Considerando que a radiação emitida está dentro das faixas do espectro visível e infravermelho, ambas classificadas como radiações não ionizantes, conclui-se que a luz utilizada não é capaz de causar excitação molecular que possa provocar danos às células do tecido (CDC, 2024). Para contextualizar, a potência da luz empregada é comparável à de um projetor de slides comum, do tipo data show, frequentemente utilizado em apresentações.

Portanto, com base nessas considerações, a luz empregada não oferece riscos, tanto do ponto de vista de excitação óptica (devido à baixa energia de excitação) quanto do ponto de vista de potência óptica (devido à baixa potência). Ademais, o processo de diagnóstico por meio de luz modulada é completamente não invasivo, sem contato físico com o paciente, garantindo que ele não sofra qualquer desconforto físico ou psicológico.

5 DISCUSSÕES

5.1 FANTOMAS DE SILICONE

Neste estudo foi produzido um total de sete fantasmas com concentrações variadas de tinta nanquim e TiO_2 . Eles foram feitos com o objetivo de investigar a relação entre os agentes absorvedores e espalhadores utilizados, e as propriedades ópticas dos fantasmas na região espectral entre os comprimentos de onda de 500 a 700 nm. Tais fantasmas foram identificadas como A, B, C, D, E, F e G e estão apresentadas na Figura 49.

A Figura 49a apresenta uma fotografia dos sete fantasmas de PDMS. Com exceção do fantoma D, que possui um raio de 3,50 cm, os outros fantasmas apresentam um raio de 3,75 cm. Todos apresentaram uma espessura de aproximadamente 1,50 cm. As concentrações de tinta nanquim variaram entre 0,375 $\mu\text{l/g}$ e 1,500 $\mu\text{l/g}$ (volume/massa para tinta nanquim/PDMS), enquanto as concentrações de TiO_2 variaram entre 0% e $0,375 \times 10^{-3}\%$ (massa/massa para TiO_2 /PDMS).

A Figura 49b exibe um gráfico de colunas representando as concentrações de tinta nanquim (em azul) e TiO_2 (em vermelho), em relação à massa de PDMS utilizada nos fantasmas. Quatro dos fantasmas (D, E, F e G) foram preparados com uma concentração constante de tinta nanquim (1,500 $\mu\text{l/g}$, em termos de V/m para tinta nanquim/PDMS) e uma concentração crescente de TiO_2 . Por outro lado, outros quatro fantasmas (A, B, C e G) foram preparados com uma concentração constante de TiO_2 ($0,375 \times 10^{-3}\%$, em termos de m/m para TiO_2 /PDMS) e uma concentração crescente de tinta nanquim.

A experiência adquirida na produção dos fantasmas demonstrou que a utilização de um agente de cura lento é preferível para sua preparação. Em primeiro lugar, catalisadores de cura lenta proporcionam um tempo maior para misturar a suspensão, facilitando a posterior remoção de bolhas de ar que se formam durante o processo. Além disso, esses catalisadores permitem o uso de maiores quantidades, possibilitando a dissolução do TiO_2 ou de outros agentes absorvedores diretamente no catalisador. Isso resulta em uma suspensão mais homogênea e, conseqüentemente, em fantasmas com uma aparência final mais uniforme.

Outro aspecto importante de nossa metodologia foi a utilização de um agitador mecânico para misturar os componentes dos fantasmas. Esse método

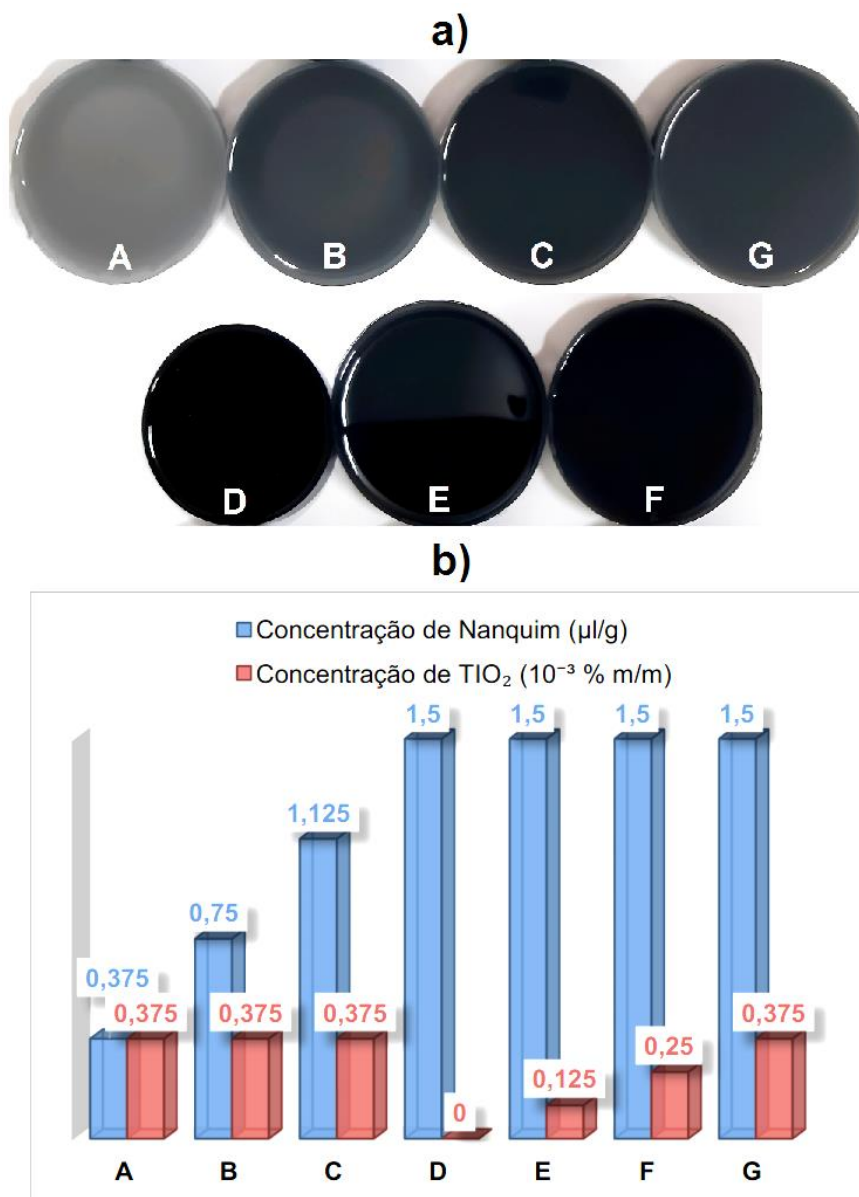
reduziu significativamente o tempo de produção, quando comparado à mistura manual com bastões de vidro, aumentando a eficiência no processo de fabricação. Além disso, a distribuição das partículas dos agentes absorvedores e espalhadores na matriz de PDMS foi mais uniforme e abrangente, garantindo maior confiabilidade e reprodutibilidade na técnica. Esses avanços na metodologia, como o uso de catalisadores de cura lenta e o emprego do agitador mecânico, contribuíram para a produção de fantasmas ópticos com maior qualidade, facilitando sua aplicação em experimentos e medições de propriedades ópticas.

Após suas propriedades ópticas desses fantasmas serem caracterizadas, eles contribuíram significativamente para aplicações em testes, calibração, padronização e otimização dos equipamentos e técnicas ópticas empregadas neste estudo. Adicionalmente, sua utilização nos estudos ópticos permitiu a obtenção de resultados confiáveis e a validação dos procedimentos, o que reforçou a robustez e a precisão das análises que foram realizadas.

Esse tipo de estudo, utilizando fantasmas, é importante porque, embora a combinação da técnica SFDI com RNA ofereça uma solução promissora para medir propriedades ópticas de tecidos biológicos, como a saturação de oxigênio, a precisão dos resultados dependerá da escolha adequada dos comprimentos de onda utilizados nas medições, bem como da calibração e validação cuidadosa dos equipamentos. Consequentemente isso proporciona avanços significativos no monitoramento não invasivo da oxigenação tecidual, o que é crucial para o manejo de pacientes com COVID-19 e outras condições clínicas.

A seguir, serão discutidas a relação entre as concentrações dos agentes absorvedores e espalhadores, utilizados na produção dos fantasmas, e as suas propriedades ópticas. Utilizando a esfera integradora, foram medidos os espectros de refletância difusa e transmitância total dos fantasmas. Posteriormente, os dados foram processados utilizando o software MATLAB e a técnica *Inverse Adding-Doubling* (IAD), obtendo assim os coeficientes de absorção e espalhamento reduzido das amostras.

Figura 49 – a) Fotografia da vista superior dos sete fantasmas produzidos em formato cilíndrico. Com exceção do fantoma D, que possui um raio de 3,50 cm, os outros fantasmas apresentam um raio de 3,75 cm. Todos apresentaram uma espessura de aproximadamente 1,50 cm. b) gráfico de colunas representando as concentrações de tinta nanquim (em azul) e TiO_2 (em vermelho), em relação à massa de PDMS utilizada nos fantasmas.

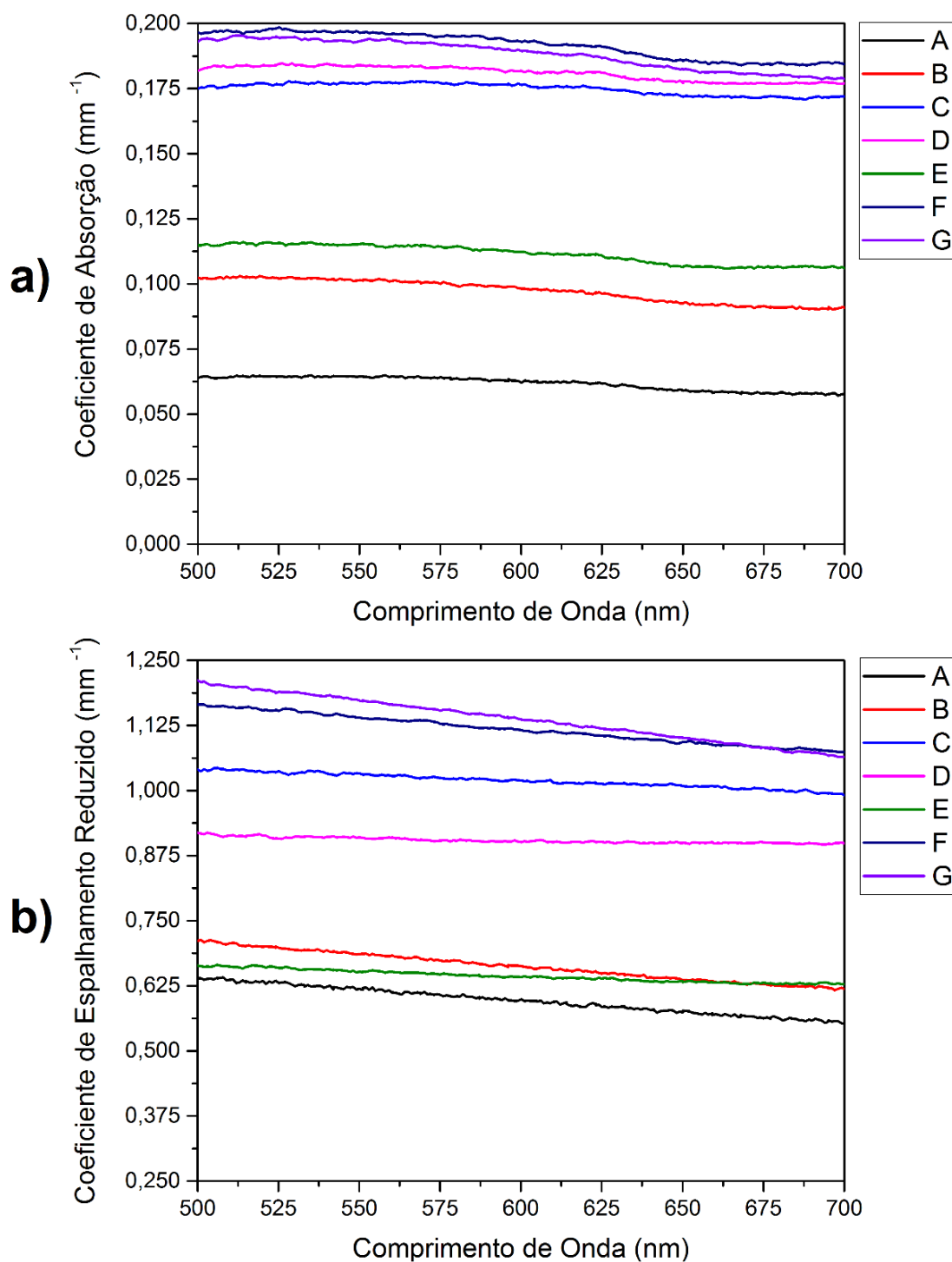


5.2 MEDIDAS REALIZADAS NA ESFERA INTEGRADORA

A obtenção das propriedades ópticas dos sete fantasmas produzidos foi realizada utilizando o método IAD previamente discutido na metodologia. Na Figura 50a estão apresentados os espectros de coeficiente de absorção para cada amostra e na Figura 50b os espectros de coeficiente de espalhamento reduzido, ambos na faixa de comprimentos de onda (λ) entre 500 e 700 nm. Através desse método, foi

possível obter informações detalhadas sobre o comportamento desses materiais em relação à absorção e ao espalhamento de luz.

Figura 50 - (a) Espectros do coeficiente de absorção e (b) espectros do coeficiente de espalhamento reduzido dos sete fantasmas com concentrações variadas de tinta nanquim e TiO_2 , na faixa de comprimentos de onda entre 500 e 700 nm.



Os resultados apresentados na Figura 50 são fundamentais para o entendimento das propriedades ópticas dos materiais utilizados nos fantasmas.

Conforme esperado, de acordo com a teoria de Mie, verificou-se que os valores do coeficiente de espalhamento reduzido tendem a diminuir à medida que o comprimento de onda aumenta. Essa observação está em conformidade com as expectativas teóricas e demonstra o comportamento típico desses materiais em relação à propagação da luz em diferentes comprimentos de onda. Além disso, é importante destacar que o coeficiente de absorção exibido pelos fantasmas apresenta um espectro relativamente plano, que é uma característica da tinta nanquim (AYERS et al., 2008; LIU et al., 2018).

Os resultados também indicam que os coeficientes de absorção, dentro da faixa de comprimentos de onda analisada, são predominantemente influenciados pela concentração da tinta nanquim. Para validar essa observação, foram comparados os espectros dos fantasmas D, F e G, que foram preparados com uma mesma concentração de tinta nanquim (1.500 µl/g, em termos de V/m para tinta nanquim/PDMS) e concentrações variáveis de TiO₂. Observou-se que, no comprimento de onda de 650 nm, por exemplo, a média e o desvio padrão dos coeficientes de absorção das três amostras foram de $0,183 \pm 0,03 \text{ mm}^{-1}$. Este baixo valor para o desvio padrão indica que os valores do conjunto de dados estão próximos da média e que os valores não estão muito dispersos.

Além disso, os resultados obtidos para os fantasmas D, F e G, mostram que todos os seus espectros de absorção exibiram intensidades semelhantes, independentemente das diferenças nas concentrações de TiO₂. Essa similaridade pode ser atribuída à mesma concentração de tinta nanquim em todas as amostras e à baixa absorção do TiO₂ nessa faixa espectral. Entretanto, é importante notar que houve uma leve variação nos espectros, o que pode ser explicado pelo fato de os fantasmas serem suspensões heterogêneas. Isso significa que, apesar da aparência homogênea, existem regiões com diferentes concentrações de partículas absorvedoras, o que contribui para pequenas diferenças nas medições dos coeficientes de absorção.

Contudo, observou-se uma exceção notável no fantoma E, que também possui a mesma concentração de tinta nanquim que os fantasmas D, F e G. Curiosamente, os dados obtidos para o fantoma E apresentaram um comportamento irregular. Essa irregularidade foi atribuída ao fato de que a tinta nanquim consiste em uma suspensão de partículas em uma solução aquosa, e os próprios fantasmas são formados por misturas heterogêneas de partículas. Essa heterogeneidade resulta na

formação de aglomerados de partículas em certas regiões das amostras, enquanto em outras regiões a concentração de partículas é menor. Consequentemente, a absorção ou espalhamento de luz são afetados nessas áreas distintas, contribuindo para o comportamento irregular observado nos dados do fantoma E.

Também se observou que a tinta nanquim não pode ser considerada apenas como um agente absorvedor, pois ela contribui significativamente para o espalhamento de luz na faixa entre 500 e 700 nm do espectro. Esses resultados estão em consonância com estudos anteriores realizados por outros autores (LEY et al., 2014; NINNI; MARTELLI; ZACCANTI, 2010).

Para verificar quantitativamente a relação entre o coeficiente de absorção e o coeficiente de espalhamento reduzido, em relação as concentrações de tinta nanquim e TiO_2 presentes nos fantasmas, foi realizada uma análise de regressão linear no comprimento de onda de 650 nm. É importante mencionar que, antes de realizar a regressão linear, foram calculados os coeficientes de correlação linear para avaliar a dependência entre o coeficiente de absorção e a concentração de tinta nanquim, bem como entre o coeficiente de espalhamento reduzido e as concentrações de tinta nanquim e TiO_2 . Os resultados revelaram que em todas as análises, os coeficientes de correlação linear excederam 0,95, indicando uma forte relação linear entre as variáveis. Além disso, os valores provenientes do fantoma E foram excluídos, devido aos desvios extremos apresentados em relação aos demais fantasmas.

A análise de regressão linear foi realizada por meio do software Origin. Este procedimento permitiu estabelecer relações quantitativas entre as variáveis de interesse, proporcionando uma avaliação precisa das tendências e associações presentes nos dados coletados. Na Figura 51 estão apresentados gráficos de regressão linear dos coeficientes de absorção e espalhamento reduzido dos fantasmas, medidos no comprimento de onda de 650 nm, em função das concentrações dos agentes absorvedor e espalhador.

Na Figura 51a, foi analisada a relação entre o coeficiente de absorção e a concentração de tinta nanquim, enquanto a concentração de TiO_2 foi mantida constante em $0,375 \times 10^{-3}\%$ (em termos de m/m para TiO_2/PDMS). Na Figura 51b, examinou-se a relação entre o coeficiente de espalhamento reduzido e a concentração de tinta nanquim, mantendo novamente a concentração de TiO_2 constante em $0,375 \times 10^{-3}\%$ (em termos de m/m para TiO_2/PDMS). E, na Figura 51c,

investigou-se a relação entre o coeficiente de espalhamento reduzido e a concentração de TiO_2 , com a concentração de tinta nanquim constante em 1,500 $\mu\text{l/g}$ (em termos de V/m para tinta nanquim / PDMS).

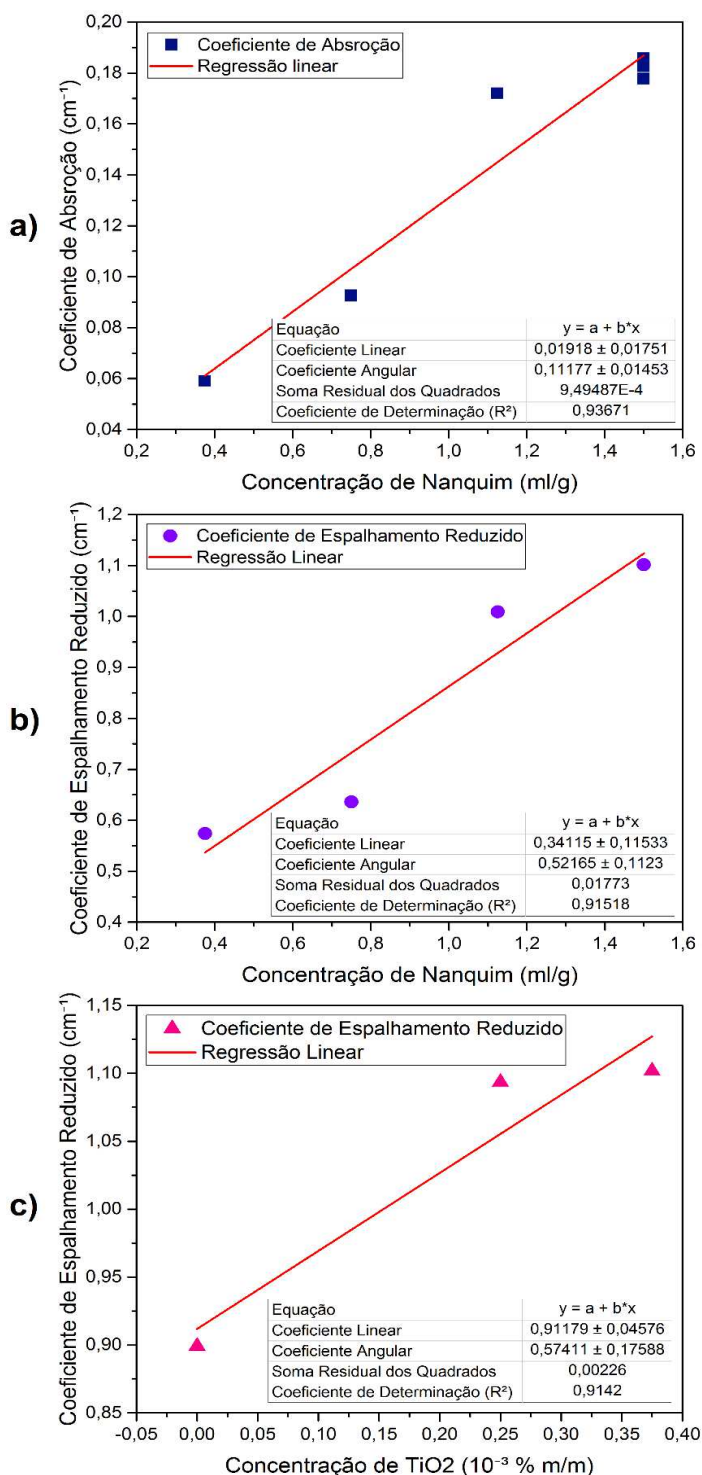
Em todos os três casos, foi observada uma relação linear significativa entre as variáveis dependentes (coeficientes de absorção e espalhamento reduzido) e as variáveis independentes (concentração dos agentes absorvedores e espalhadores). Nos três cenários analisados, o coeficiente de determinação (R^2) foi sempre maior que 0,91, indicando um ajuste razoável dos dados. Essa relação linear foi consistente para outros comprimentos de onda, embora os resultados desses outros comprimentos de onda não tenham sido apresentados na Figura 51.

Apesar de apresentar alguma variabilidade, a linearidade dos gráficos possibilita uma previsão razoável das características dos fantasmas. Essa relação linear, observada nas análises, fornece uma base confiável para estimar e compreender as propriedades ópticas dos fantasmas estudados. Tal comportamento previsível é fundamental para a aplicação bem-sucedida desses materiais em técnicas ópticas e produção de outros fantasmas a partir da técnica utilizada.

Um repertório de fantasmas devidamente caracterizados é essencial para conduzir diversos testes e validar equipamentos utilizados no laboratório. Neste trabalho, detalhamos um processo de fabricação eficiente e de fácil reprodução, capaz de produzir fantasmas com propriedades ópticas previsíveis e consistentes na faixa de comprimentos de onda entre 500 e 700 nm, conforme evidenciado pelas comparações realizadas anteriormente. Além disso, um processo de fabricação eficiente é crucial para estudos comparativos e investigações que dependam de dados confiáveis e precisos sobre as propriedades ópticas dos materiais em diferentes condições.

Por meio da preparação adequada dos fantasmas e da validação de sua linearidade, é possível utilizá-los em experimentos futuros e aplicações práticas. Para futuras investigações, planejamos produzir e caracterizar fantasmas adicionais, ampliando a gama de propriedades ópticas abrangidas. Essas contribuições visam enriquecer o campo da imagiologia médica e facilitar o desenvolvimento de novas tecnologias e métodos para diagnóstico e monitoramento em saúde.

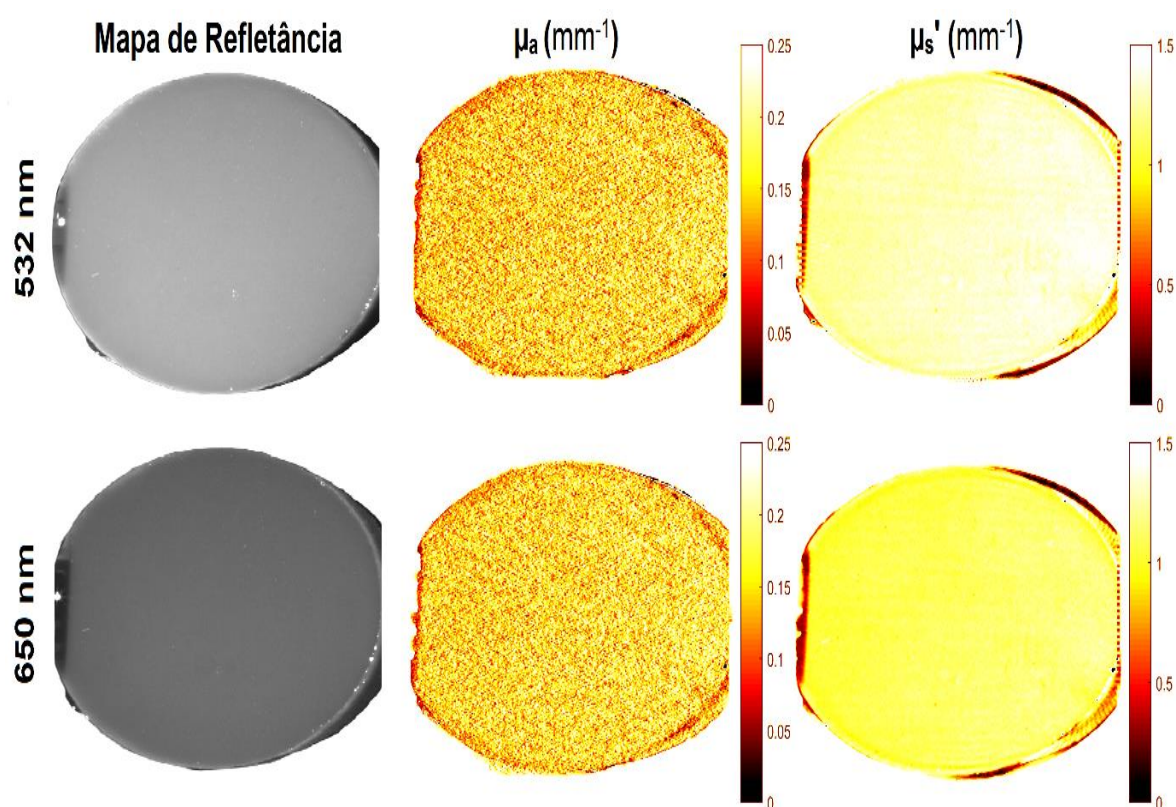
Figura 51 – Gráficos dos coeficientes de absorção e espalhamento reduzido dos fantasmas em função das concentrações dos agentes absorvedor e espalhador. Todos os coeficientes foram medidos no comprimento de onda de 650 nm. a) Coeficiente de absorção em relação à concentração de tinta nanquim. A concentração de TiO_2 foi mantida constante em $0,375 \times 10^{-3}\%$ (em termos de m/m para TiO_2/PDMS). b) Coeficiente de espalhamento reduzido em relação à concentração de tinta nanquim. A concentração de TiO_2 foi mantida constante em $0,375 \times 10^{-3}\%$ (em termos de m/m para TiO_2/PDMS). c) Coeficiente de espalhamento reduzido em relação à concentração de TiO_2 . A concentração de tinta nanquim foi mantida constante em $1,500 \mu\text{l/g}$ (em termos de V/m para tinta nanquim/PDMS).



5.3 MAPAS DE ABSORÇÃO E ESPALHAMENTO REDUZIDO DOS FANTOMAS

A partir do sistema SFDI, foram obtidos mapas de falsas cores para os coeficientes de absorção e espalhamento reduzido do fantoma G, previamente ilustrado na Figura 49, nos comprimentos de onda de 532 e 650 nm. Esse fantoma possui uma concentração de 1,500 $\mu\text{l/g}$ de tinta nanquim (expressa em termos de V/m para tinta nanquim/PDMS) e uma concentração de $0,375 \times 10^{-3}\%$ de TiO_2 (expressa em termos de m/m para TiO_2 /PDMS). Os mapas estão apresentados na Figura 52.

Figura 52 - Mapas de falsas cores dos coeficientes de absorção e espalhamento reduzido, obtidos nos comprimentos de onda de 532 e 650 nm, abrangendo quase toda a superfície do fantoma G.

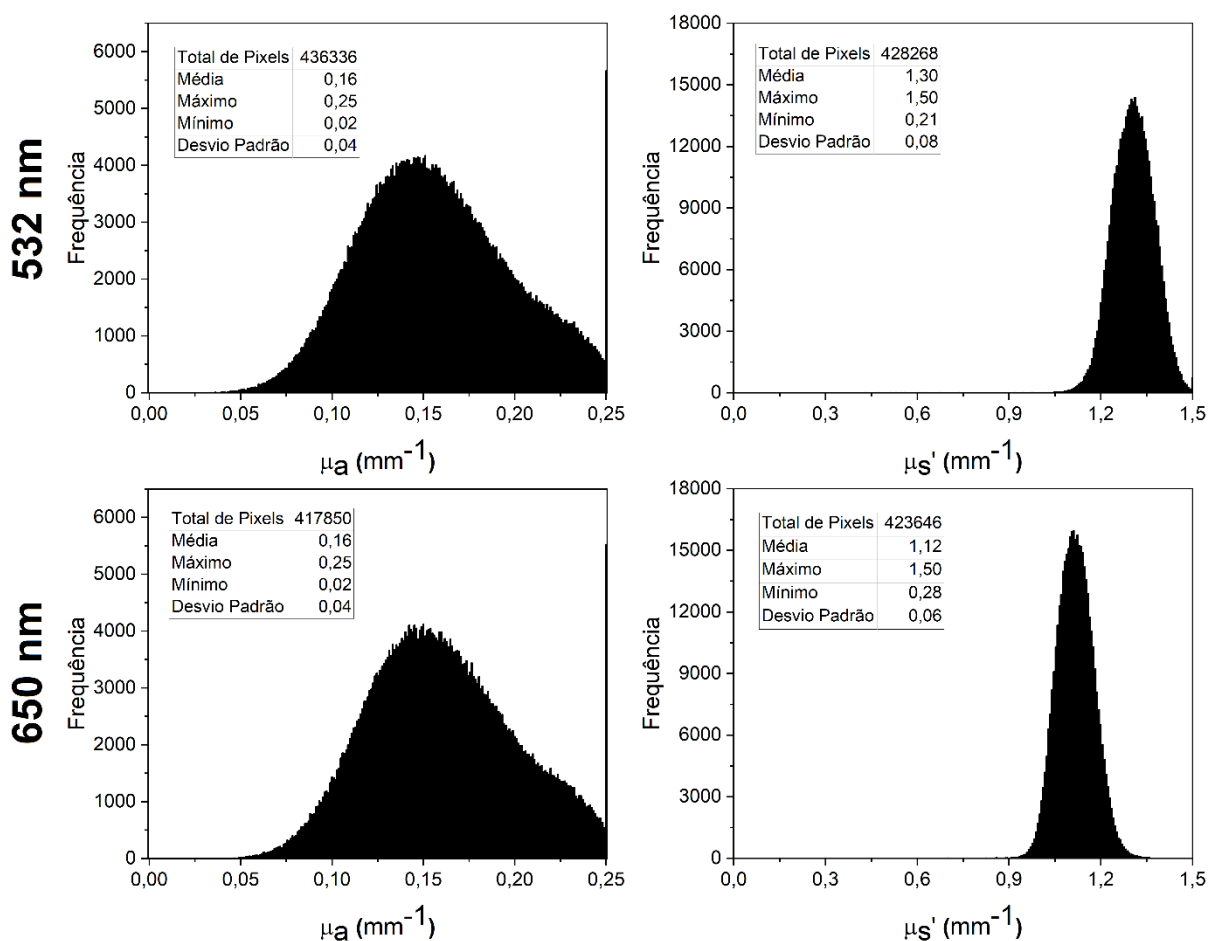


Devido à capacidade de campo amplo da técnica SFDI, foi possível adquirir imagens superficiais de cada fantoma, permitindo a avaliação da homogeneidade das propriedades ópticas em toda a extensão das amostras. Na representação apresentada na Figura 52, os coeficientes de absorção e espalhamento reduzido foram visualizados por meio de mapas de falsas cores, abrangendo quase toda a superfície do fantoma. É relevante ressaltar que o tamanho da imagem nesta figura foi limitado pelo campo de visão da câmera CCD. Além disso, todos os fantasmas

apresentaram aparência uniformidade e características ópticas semelhantes em suas superfícies.

Histogramas contendo os valores médios dos coeficientes de absorção e espalhamento reduzido, assim como os seus valores máximos, mínimos e desvio padrão, obtidos por meio dos mapas de falsas cores do fantoma G, medidos nos comprimentos de onda de 532 e 650 nm, estão apresentados nos histogramas da Figura 53. É notável a concordância entre essas medições obtidas pelo SFDI e os resultados obtidos por meio da esfera integradora e o método IAD. É importante destacar que os fantasmas utilizados nas medidas utilizando a esfera e o SFDI foram produzidos a partir da mesma suspensão, mas possuem formatos e espessuras diferentes.

Figura 53 - Histogramas contendo os valores médios dos coeficientes de absorção e espalhamento reduzido, assim como os seus valores máximos, mínimos e desvio padrão, obtidos por meio dos mapas de falsas cores do fantoma G, medidos nos comprimentos de onda de 532 e 650 nm.



No caso específico do fantoma G, quando avaliado no comprimento de onda de 532 nm, os coeficientes de absorção e espalhamento reduzido médios, medidos na superfície dele, foram, respectivamente, $0,16 \pm 0,04 \text{ mm}^{-1}$ e $1,30 \pm 0,08 \text{ mm}^{-1}$. Já

no comprimento de onda de 650 nm, os coeficientes de absorção e espalhamento reduzido médios foram $0,16 \pm 0,04 \text{ mm}^{-1}$ e $1,12 \pm 0,06 \text{ mm}^{-1}$, respectivamente. Um resultado semelhante foi obtido por meio da esfera integradora e o método IAD, conforme demonstrado anteriormente na Figura 50, revelando que os valores dos coeficientes de espalhamento reduzido tendem a decrescer à medida que o comprimento de onda aumenta.

Mapas de cores falsas dos coeficientes de absorção e espalhamento reduzido, obtidos no comprimento de onda de 532 nm, para os demais fantasmas (A, B, C, D, E e F) estão apresentados na Figura 54. É evidente que o coeficiente de absorção apresenta um aumento na intensidade conforme a concentração de tinta nanquim nos fantasmas aumenta, conforme pode observado na comparação entre os mapas de falsas cores dos fantasmas A, B e C. De maneira semelhante, os coeficientes de espalhamento reduzido também exibem um aumento na intensidade à medida que os fantasmas apresentam concentrações mais elevadas de tinta nanquim, conforme pode observado na comparação entre os mapas de falsas cores dos fantasmas A, B e C, ou concentrações mais elevadas de TiO_2 , conforme pode observado na comparação entre os mapas de falsas cores dos fantasmas D, E e F. Essas tendências também foram observadas no comprimento de onda de 650 nm.

Para analisar quantitativamente a relação entre o coeficiente de absorção e o coeficiente de espalhamento reduzido, em relação as concentrações de tinta nanquim e TiO_2 presentes nos fantasmas, foi realizada uma análise de regressão linear no comprimento de onda de 532 nm, a partir dos histogramas dos mapas de falsas cores apresentadas na Figura 54. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 55 estão, no qual foram montados gráficos dos coeficientes de absorção e espalhamento reduzido em função das concentrações dos agentes absorvedor e espalhador. Na Figura 55a, é analisada a relação entre o coeficiente de absorção e a concentração de tinta nanquim, mantendo a concentração de TiO_2 constante em $0,375 \times 10^{-3}\%$ (em termos de m/m para TiO_2/PDMS). Na Figura 55b, a relação entre o coeficiente de espalhamento reduzido e a concentração de tinta nanquim é examinada, com a concentração de TiO_2 novamente constante. Na Figura 55c, a relação entre o coeficiente de espalhamento reduzido e a concentração de TiO_2 é investigada, mantendo a concentração de tinta nanquim constante em $1,500 \text{ } \mu\text{l/g}$ (em termos de V/m para tinta nanquim/PDMS).

Figura 54 - Mapas em falsas cores dos coeficientes de absorção e espalhamento reduzido, adquiridos no comprimento de onda de 532 nm, relativos aos fantasmas A, B, C, D, E e F. Na coluna esquerda, são exibidos os mapas de absorção, enquanto na coluna direita são apresentados os mapas de espalhamento reduzido correspondentes a cada fantoma.

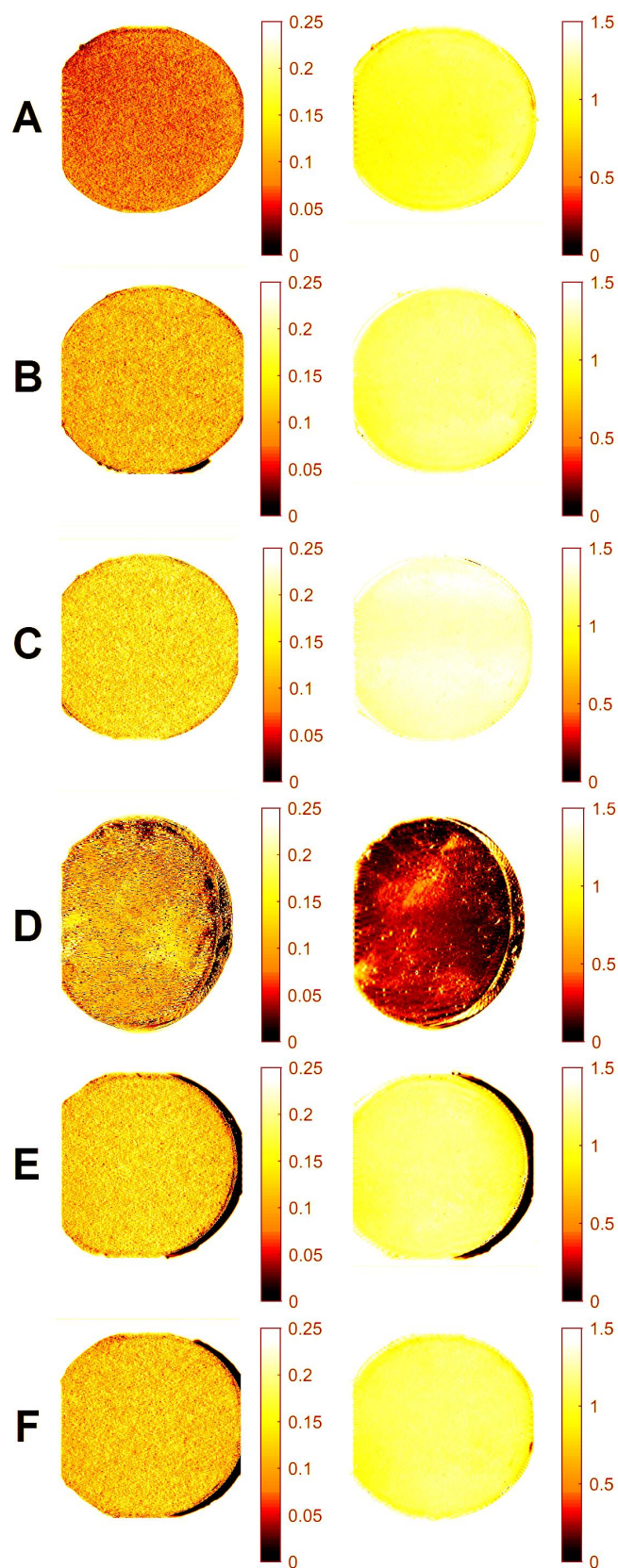
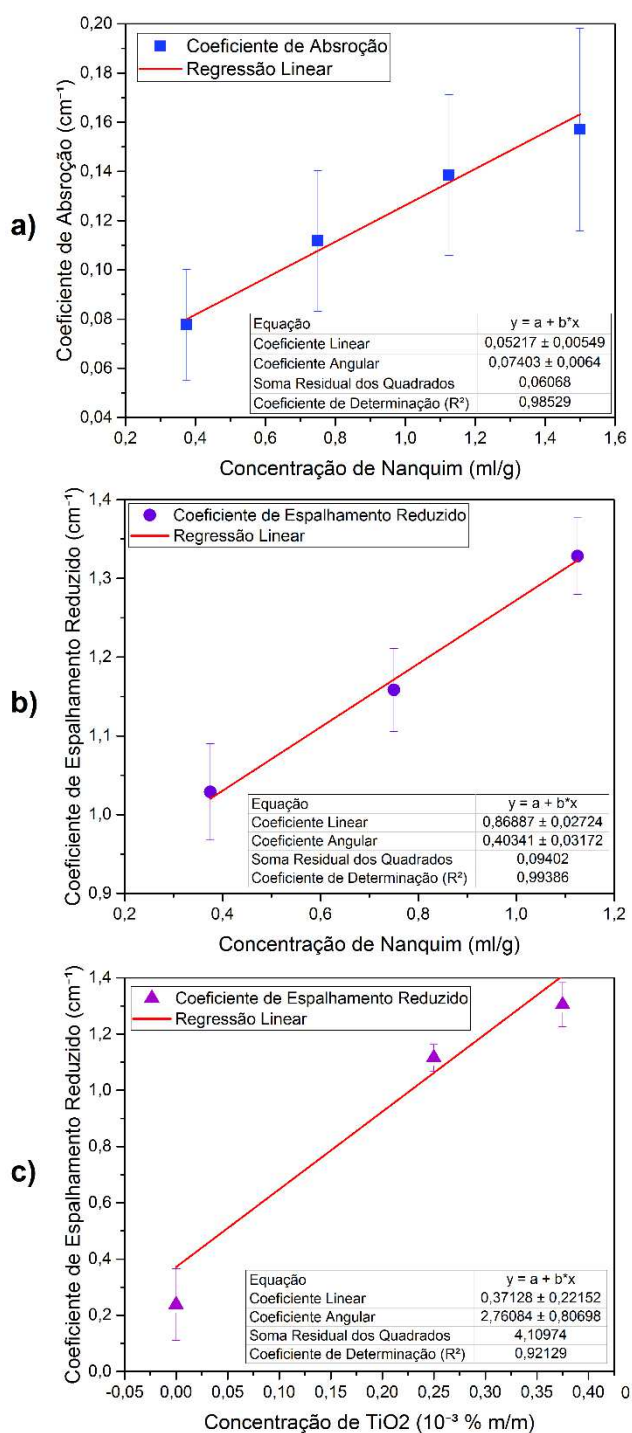


Figura 55 – Gráficos dos coeficientes de absorção e espalhamento reduzido dos fantasmas em função das concentrações dos agentes absorvedor e espalhador, montados a partir dos histogramas dos mapas de falsas cores apresentadas na Figura 54. Todos os coeficientes foram medidos no comprimento de onda de 532 nm. a) Coeficiente de absorção em relação à concentração de tinta nanquim. A concentração de TiO_2 foi mantida constante em $0,375 \times 10^{-3}\%$ (em termos de m/m para TiO_2/PDMS). b) Coeficiente de espalhamento reduzido em relação à concentração de tinta nanquim. A concentração de TiO_2 foi mantida constante em $0,375 \times 10^{-3}\%$ (em termos de m/m para TiO_2/PDMS). c) Coeficiente de espalhamento reduzido em relação à concentração de TiO_2 . A concentração de tinta nanquim foi mantida constante em $1,500 \mu\text{g}$ (em termos de V/m para tinta nanquim/PDMS).



Para todos os três cenários, é notável a presença de uma relação linear significativa entre as variáveis dependentes (coeficientes de absorção e espalhamento reduzido) e as variáveis independentes (concentração dos agentes absorvedores e espalhadores). Os coeficientes de determinação (R^2) em todos os três casos excederam 0,91, indicando um ajuste satisfatório dos dados. Esta linearidade também foi observada para o comprimento de onda de 650 nm, embora os resultados correspondentes a esse comprimento de onda não tenham sido representados nesta figura.

Apesar de uma leve variabilidade, a tendência linear dos gráficos possibilita uma previsão confiável das características dos fantasmas. A relação linear identificada nessas análises oferece uma base sólida para a estimativa e compreensão das propriedades ópticas dos fantasmas em estudo. Esse comportamento previsível é de suma importância para a aplicação eficaz desses materiais em técnicas ópticas.

Com isso, a técnica SFDI demonstrou ser capaz de determinar quantitativamente os coeficientes de absorção e espalhamento reduzido nos fantasmas examinados. Essa habilidade a torna uma ferramenta viável para a obtenção não invasiva de informações clinicamente relevantes relacionadas ao estado de tecidos humanos. Isso engloba parâmetros diagnósticos cruciais, como saturação de oxigênio, perfusão sanguínea, concentração de melanina e microarquitetura tecidual. Essa abordagem promissora tem o potencial de aprimorar significativamente a capacidade de avaliar condições médicas, sem a necessidade de intervenções invasivas (ERICKSON et al., 2010).

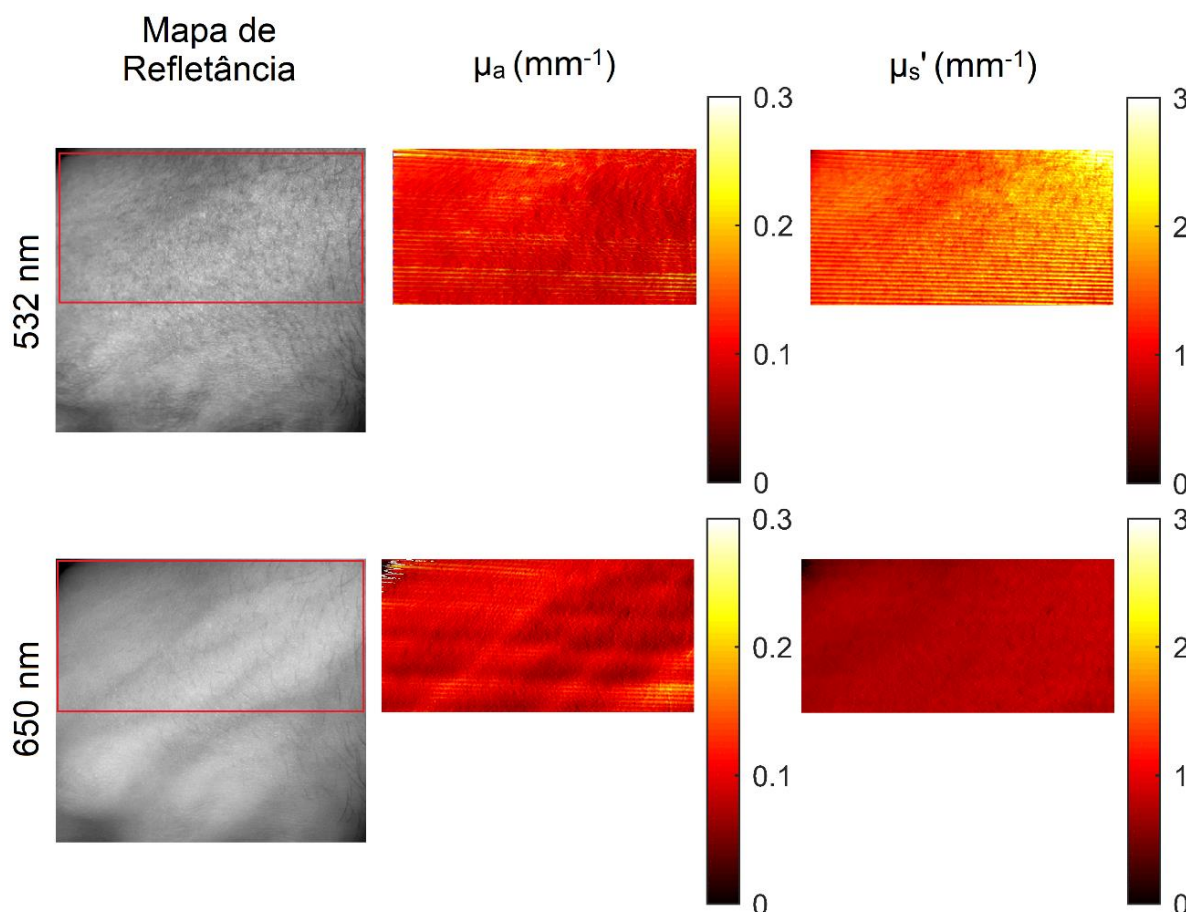
5.3 MAPAS DE ABSORÇÃO E ESPALHAMENTO REDUZIDO *IN VIVO*

A técnica SFDI foi aplicada em medições *in vivo* para determinar os coeficientes de absorção e espalhamento reduzido nos comprimentos de onda de 532 e 650 nm. Essa medição foi realizada na região dorsal da mão de um voluntário e, conforme pode ser observado no mapa de refletância apresentado na Figura 56. Nela, os retângulos vermelhos indicam as regiões de interesse (ROIs, do inglês *regions of interest*), onde os coeficientes foram quantificados.

A seleção dessas ROIs foi cuidadosamente realizada para minimizar distorções causadas pela curvatura da superfície da parte dorsal da mão nos mapas

resultantes de absorção e espalhamento reduzido. Os campos de visão dessas regiões foram aproximadamente $8 \times 4 \text{ cm}^2$. Na Figura 56 também estão apresentados mapas de falsas cores dos coeficientes de absorção e espalhamento reduzido, obtidos nos comprimentos de onda de 532 e 650 nm, na ROI analisada.

Figura 56 – Mapas refletância difusa e de falsas cores dos coeficientes de absorção e espalhamento reduzido, obtidos nos comprimentos de onda de 532 e 650 nm, da região dorsal da mão de um voluntário.



Os vasos sanguíneos subsuperficiais, presentes na região analisada, foram identificados no mapa de absorção obtido no comprimento de onda de 650 nm. Esse tipo de análise quantitativa contribui para uma compreensão mais aprofundada da microcirculação cutânea. As características ópticas do tecido, avaliadas nesta região por meio do nosso dispositivo SFDI, apresentaram consistência com as informações previamente documentadas na literatura (NADEAU; DURKIN; TROMBERG, 2014). Além disso, conforme esperado, observou-se uma tendência de diminuição nos valores dos coeficientes de espalhamento reduzido à medida que o comprimento de onda aumentou.

Uma das principais razões por trás do emprego da modulação espacial da luz na técnica SFDI é a capacidade de separação de efeitos de espalhamento dos efeitos de absorção e, a partir disso, gerar mapas quantitativos que representam essas propriedades ópticas. O resultado apresentado na Figura 56 ilustra de maneira convincente a capacidade da técnica SFDI em proporcionar estimativas dos coeficientes μ_a e μ_s' por meio de medições realizadas em tecido biológico. Esse êxito reforça a aplicabilidade da técnica para a obtenção de informações ópticas em situações de análise em tempo real e em condições não invasivas.

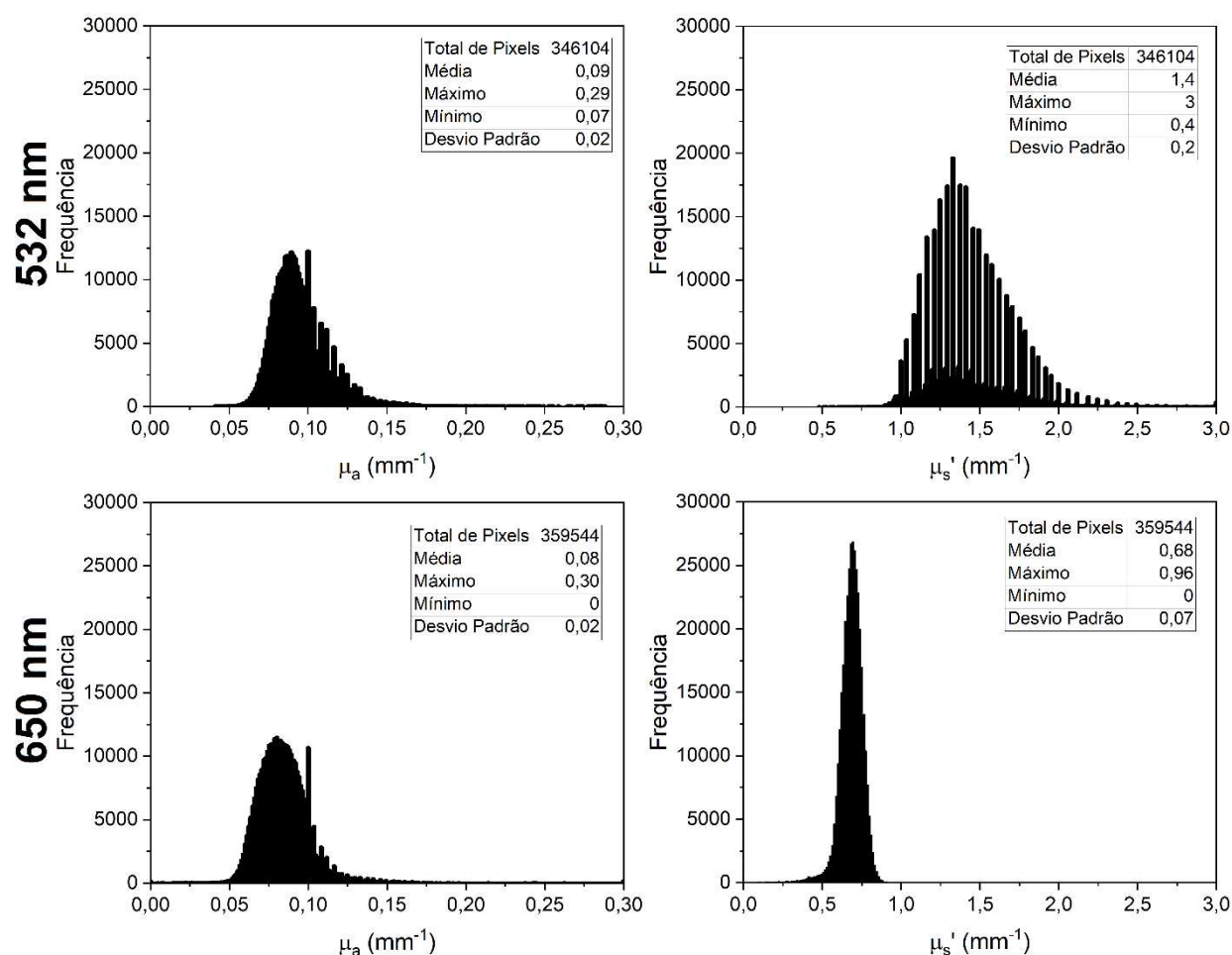
Histogramas contendo os valores médios dos coeficientes de absorção e espalhamento reduzido, assim como os seus valores máximos, mínimos e desvio padrão, obtidos por meio dos mapas de falsas cores da região dorsal da mão, medidos nos comprimentos de onda de 532 e 650 nm, estão apresentados na Figura 57. Devido à capacidade de campo amplo da técnica SFDI, foi possível capturar imagens superficiais detalhadas, permitindo uma avaliação abrangente da região analisada. Esses resultados reforçam a capacidade da técnica SFDI em contribuir para a caracterização das propriedades ópticas do tecido em condições *in vivo*.

Apesar dos resultados obtidos terem sido promissores, é importante reconhecer as limitações inerentes a este estudo. Primeiramente, a ausência de uma medição de perfil tridimensional para as amostras de tecido biológico pode ter introduzido erros durante o processo de extração das propriedades ópticas (GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019). Esses erros são comuns em análises de objetos complexos e não planos, podendo levar a um erro de até 10% por centímetro, em cálculos de absorção (SCHMIDT et al., 2019). Em segundo lugar, um processo de demodulação bem-sucedido deveria, idealmente, produzir imagens brutas do tecido sem qualquer indicação de que foram utilizados padrões sinusoidais para iluminação (APPLEGATE et al., 2020). Contudo, artefatos residuais de modulação foram observados nas imagens adquiridas, o que influenciou diretamente nos resultados.

Além disso, para que o nosso sistema SFDI não apresente artefatos residuais de modulação, é imperativo empregar uma câmera com uma taxa de aquisição mais alta que a utilizada atualmente, ou seja, com um maior número de quadros por segundo (FPS, do inglês *frames per second*), para, assim, manter uma relação sinal-ruído (SNR, do inglês *signal-to-noise ratio*) adequada e evitar ruídos na imagem. Esta necessidade surge devido aos requisitos de sincronização entre o projetor e a

câmera. Pois, se o tempo de aquisição da câmera for menor que o tempo necessário para a reconstrução da imagem, o padrão capturado pela câmera poderá permanecer incompleto. Além disso, se a taxa de aquisição da câmera não for um múltiplo par da taxa de quadros do projetor, o último quadro incompleto restante também poderá distorcer o padrão detectado e comprometer potencialmente a precisão da imagem demodulada (APPLEGATE et al., 2020).

Figura 57 - Histogramas contendo os valores médios dos coeficientes de absorção e espalhamento reduzido, assim como os seus valores máximos, mínimos e desvio padrão, obtidos por meio dos mapas de falsas cores do dorso da mão de um voluntário.



As técnicas contemporâneas alcançaram avanços notáveis no tempo de processamento de imagens no domínio da frequência espacial. Dentre essas técnicas, estão tabelas de consulta (LUTs) otimizadas, capazes de atingir tempos de resposta tão rápidos quanto 18 milissegundos para dimensões de imagem de 572 × 672 pixels e métodos de aprendizado de máquina capazes de atingir tempos de resposta de até 200 milissegundos para imagens maiores, com 696 × 520 pixels. Vale ressaltar que os desenvolvimentos contínuos neste campo estão preparados

para produzir métodos ainda mais rápidos, facilitando o processamento e a visualização de dados em tempo real (SCHMIDT et al., 2019).

Em resposta à demanda por processamento rápido de dados durante aplicações reais em clínicas, também foi conduzida uma análise óptica através da utilização da rede neural artificial. A rede neural foi empregada principalmente para determinar as concentrações dos cromóforos oxihemoglobina e desoxihemoglobina, na região dorsal da mão do voluntário. A determinação precisa das concentrações destes cromóforos é um pré-requisito fundamental para o cálculo da saturação de oxigênio (SpO_2), um parâmetro crítico em avaliações clínicas.

5.4 APLICAÇÃO DA RNA AOS DADOS DE TESTE PARA ESTIMAR A CONCENTRAÇÃO DOS CROMÓFOROS

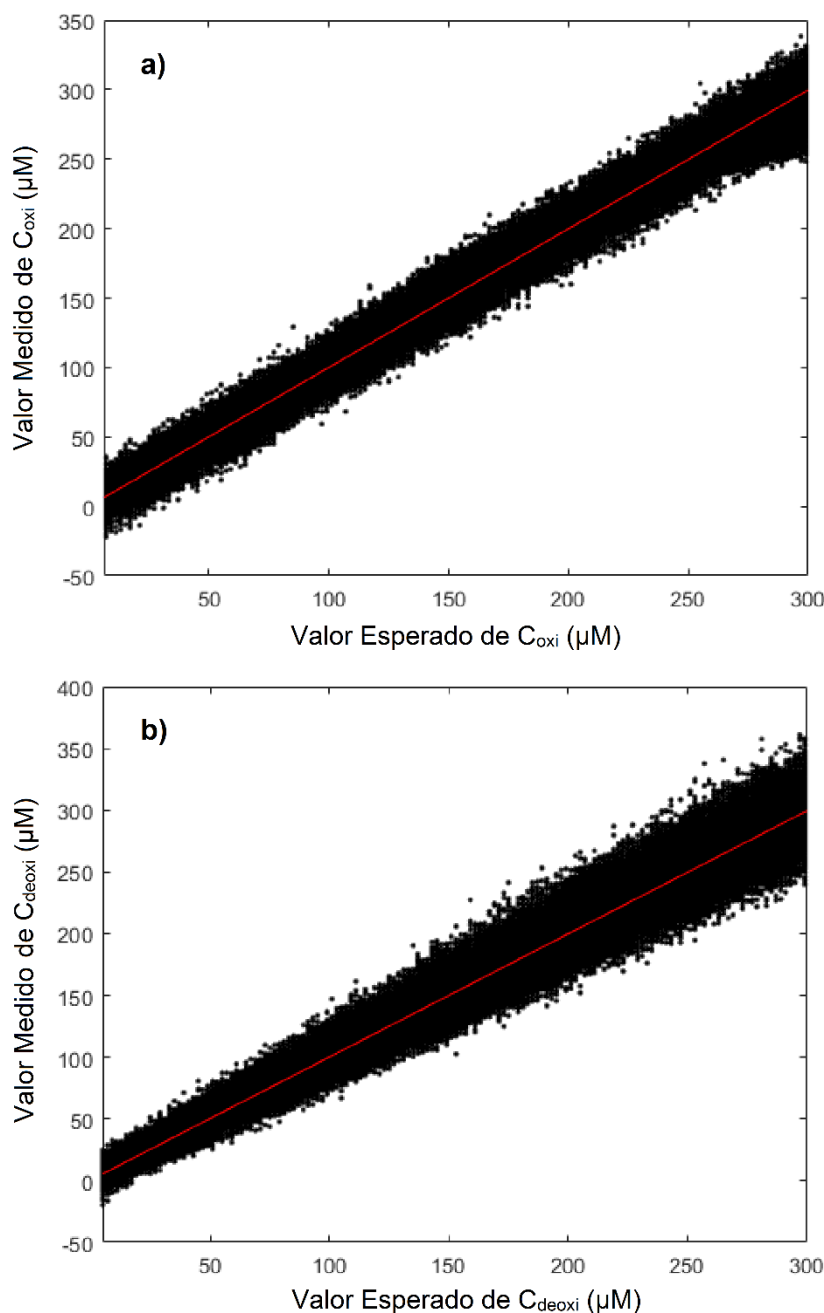
Na Figura 58 estão apresentados os resultados obtidos pela aplicação do modelo treinado da rede neural artificial aos dados de teste para estimar a concentração dos cromóforos oxihemoglobina (C_{oxi}) e desoxihemoglobina (C_{deoxi}). Os gráficos de dispersão apresentados nas Figuras 58a e 58b, mostram valores previstos de C_{oxi} e C_{deoxi} , em relação a valores esperados correspondentes. A avaliação do desempenho do modelo de predição, em relação à determinação da concentração dos cromóforos, foi conduzida utilizando o coeficiente de correlação R^2 , que quantifica o grau de relação linear entre os valores esperados e os previstos. Neste contexto, observou-se uma correlação significativa, com valores de R^2 de 0,997 para C_{oxi} e 0,982 para C_{deoxi} , destacando a notável precisão do modelo proposto (GONÇALVES et al., 2024).

Na Figura 59 estão apresentados histogramas que ilustram a distribuição de erros percentuais relativos relacionados aos valores previstos de C_{oxi} (Figura 59a) e C_{deoxi} (Figura 59b). A análise dessa figura revela que as distribuições dos erros exibiram um padrão simétrico, com seu ponto central em torno do erro zero. Esse padrão sugere que os modelos geraram resultados sem viés significativo (GONÇALVES et al., 2024).

A média dos erros percentuais para C_{oxi} e C_{deoxi} foi de 0,99% e 0,98%, respectivamente, com desvios padrão correspondentes de $\pm 2\%$ e $\pm 4\%$. Esses resultados indicam que, mesmo ao lidar com dados de entrada ruidosos, o modelo demonstrou notável exatidão e precisão na determinação das concentrações desses

cromóforos. Além disso, sugerem que arquiteturas mais simples de RNA podem ser aplicadas com êxito, em conjunto com a técnica SFDI, para obter concentrações de cromóforos a partir de dados de refletância difusa (GONÇALVES et al., 2024).

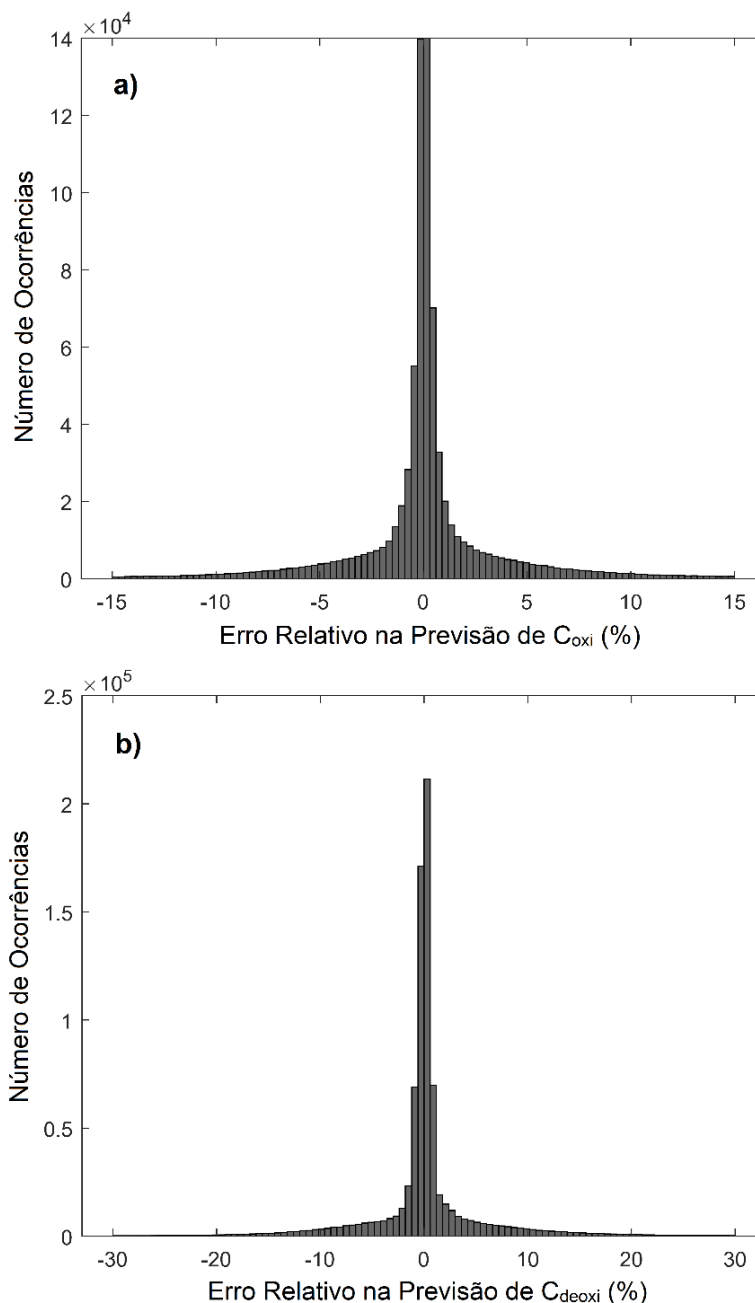
Figura 58 - Valores previstos de a) C_{oxi} e b) C_{deoxi} , plotados em relação aos valores esperados. Estes valores foram obtidos a partir da aplicação do modelo treinado da rede neural artificial aos dados de teste. Tanto em a) quanto em b), a linha sólida vermelha representa os valores esperados e os pontos pretos representam os valores previstos.



Vale ressaltar que os resultados obtidos neste estudo também estiveram de acordo com os relatados por Song et al., que empregaram um modelo de rede neural profunda para a determinação de propriedades ópticas, no qual os dados de

teste continham 2% de ruído gaussiano (SONG et al., 2022). Isto sugere que o desempenho do nosso modelo permanece comparável às abordagens de última geração, mesmo quando operando na presença de ruído, enfatizando sua robustez e aplicabilidade prática (GONÇALVES et al., 2024).

Figura 59 - Distribuição dos erros percentuais relativos observados nas previsões de a) C_{oxi} e b) C_{deoxi} , respectivamente. Em ambos os casos, as distribuições dos erros exibiram um padrão simétrico, com seu ponto central em torno do erro zero



Além disso, a partir do treinamento da RNA, foi possível determinar diretamente das concentrações dos cromóforos oxihemoglobina (C_{oxy}) e desoxihemoglobina (C_{deoxy}), bem como da saturação de oxigênio (SpO_2), a partir de

medições diretas de refletância difusa usando a técnica SFDI. Isso contribuiu para a melhora no tempo de aquisição e processamento dos mapas dos cromóforos e de SpO_2 , otimizando a eficiência do procedimento e tornando a técnica mais acessível para aplicações clínicas e experimentais.

5.5 MAPAS DE OXIGENAÇÃO *IN VIVO*

A técnica SFDI foi combinada com a RNA treinada e ambas foram empregadas para determinar as concentrações de oxihemoglobina (C_{oxi}), desoxihemoglobina (C_{deoxi}) e a saturação de oxigênio (SpO_2) da região dorsal da mão do voluntário. Os resultados obtidos foram expressos por meio de mapas de cores falsas e estão apresentados na Figura 60a. Além disso, histogramas dos pixels dos mapas estão apresentados na Figura 60b, representando os valores médios, máximos, mínimos e desvio padrão das concentrações dos cromóforos e da SpO_2 .

Os mapas apresentados na Figura 60 indicam uma concentração relativamente alta de oxihemoglobina, em comparação a desoxihemoglobina, na região analisada. Com isso, a saturação de oxigênio ficou acima de 95% na maior parte da região. Além disso, ao comparar a Figura 60a com a Figura 56, na qual são visíveis vasos sanguíneos abaixo da superfície da pele do voluntário, é possível inferir que um maior número de vasos sanguíneos funcionais está associado a um aumento na distribuição sanguínea. Esse aumento, por sua vez, contribui para elevações nos níveis de oxihemoglobina, hemoglobina total e, no contexto específico desta análise, da saturação de oxigênio.

Esses resultados estão em consonância com observações documentadas por outros autores na literatura. Além disso, a presença de um maior número de vasos sanguíneos funcionais é consistentemente associada a uma melhoria na circulação sanguínea e, por conseguinte, a uma otimização dos parâmetros relacionados ao transporte de oxigênio (LYU et al., 2022; TABASSUM et al., 2021). Essas constatações fortalecem a validade e a consistência dos achados, corroborando a relevância clínica dos mapas de oxigenação na avaliação não invasiva da microcirculação cutânea.

A presente técnica, projetada e validada neste trabalho, demonstrou ser a capaz de gerar mapas de campo amplo de cromóforos presentes no tecido epitelial

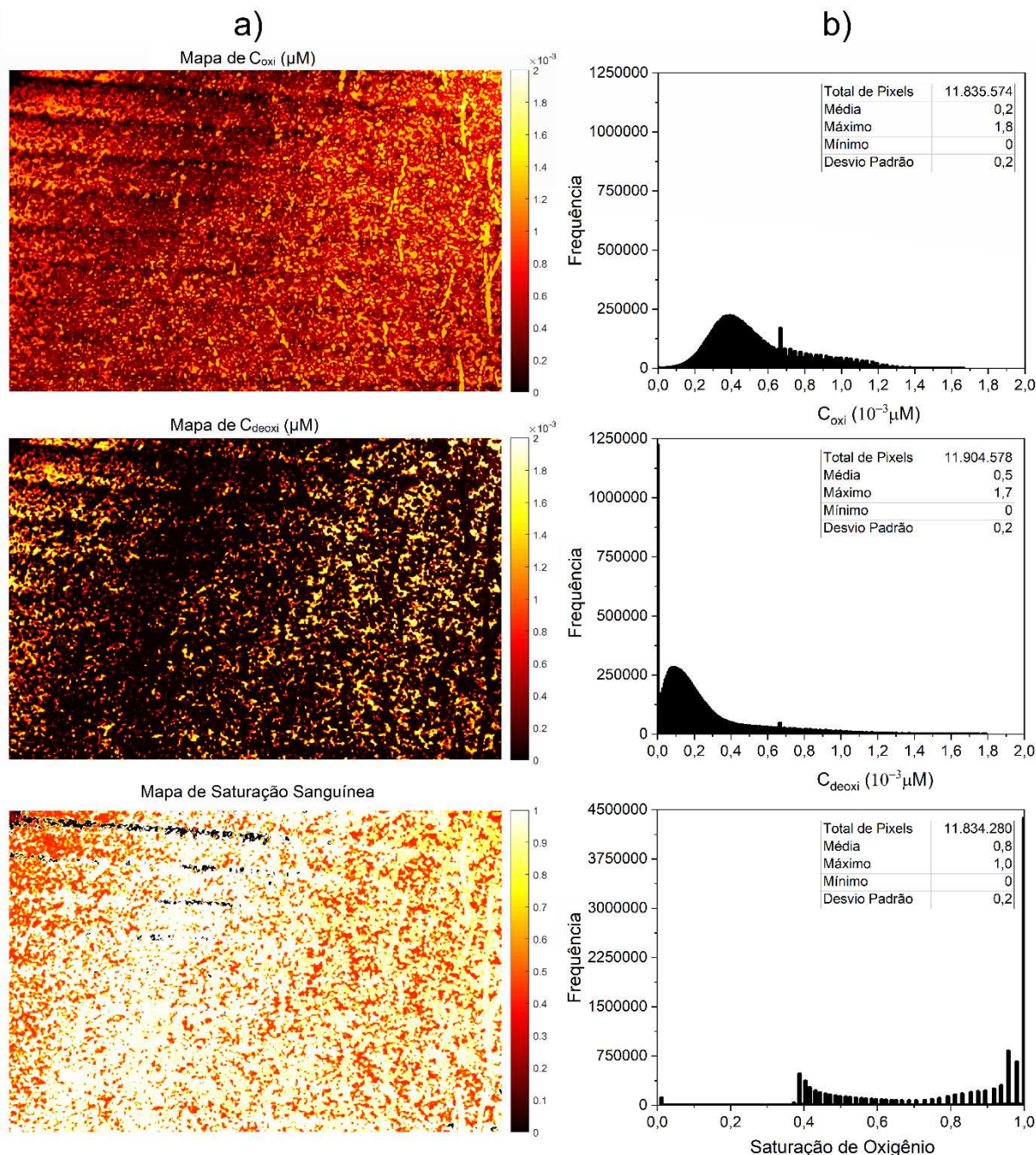
e a sua saturação de oxigênio. A utilização de mapas de oxigenação tem o potencial de aprimorar significativamente a monitorização de pacientes clínicos. Um dos benefícios notáveis ao fornecer essas medições em amplos campos de visão é a capacidade de identificar áreas suscetíveis a hipóxia ou isquemia, mesmo quando não há sintomas evidentes (NGUYEN et al., 2013b). A análise de imagens desse tipo pode ser suficiente para desencadear intervenções críticas e imediatas, permitindo uma resposta mais eficaz diante de situações potencialmente preocupantes. Este enfoque oferece uma abordagem proativa para a gestão de condições clínicas, possibilitando a detecção precoce de problemas em regiões específicas, o que pode ser crucial para otimizar a qualidade do cuidado ao paciente.

É crucial enfatizar que a qualidade da reconstrução das imagens dos cromóforos e da saturação de oxigênio, obtidas por meio da técnica descrita, *in vivo*, é influenciada por vários fatores. Os fatores que mais influenciam a qualidade das imagens são: a escolha dos comprimentos de onda utilizados para mensurar a refletância difusa e o coeficiente de absorção, a falta de uma medição de perfil tridimensional para as amostras de tecido biológico, a taxa de aquisição da câmera CCD, a falta de polarizadores lineares cruzados, que são usados no sistema para limitar o efeito da reflexão especular da amostra, e a ocorrência de artefatos de movimento durante as medições (APPLEGATE et al., 2020; GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019). É importante salientar que a completa imobilidade de um indivíduo durante a realização das medidas é impossível, o que pode levar à perda na resolução espacial devido ao movimento do paciente.

A seleção cuidadosa dos comprimentos de onda é essencial para minimizar a interferência entre as propriedades de extinção de cada cromóforo. Por exemplo, estudos demonstraram que a escolha de 650 nm e 860 nm é ideal para determinar as concentrações de oxihemoglobina e desoxihemoglobina. Além disso, é relevante observar que o método proposto quantifica a concentração molar tecidual, também conhecida como concentração tissular de oxihemoglobina (ctO₂Hb, do inglês *oxyhemoglobin tissular concentration*), em que se usa o prefixo ct. Trata-se de uma medida quantitativa do conteúdo de oxihemoglobina dentro do volume do tecido iluminado pela luz, diferindo da definição química típica de concentração em um meio diluído (GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019).

Os desafios mencionados evidenciam limitações significativas na reconstrução precisa das imagens obtidas por meio da técnica SFDI. A ausência de medidas tridimensionais dos perfis de tecidos biológicos prejudica a precisão geométrica e pode introduzir erros na avaliação das propriedades ópticas. Além disso, questões relacionadas à taxa de aquisição da câmera CCD e à presença de artefatos de movimento são fatores cruciais que podem distorcer os resultados, como destacado em estudos anteriores (APPLEGATE et al., 2020; GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019).

Figura 60 - a) Mapas de falsas cores das concentrações de oxihemoglobina (C_{oxi}), desoxihemoglobina (C_{deoxi}) e a saturação de oxigênio (SpO_2) da região dorsal da mão do voluntário. b). Histogramas contendo os valores médios, máximos, mínimos e desvio padrão das concentrações dos cromóforos e da SpO_2 , obtidos por meio dos mapas de falsas cores.



A falta de polarizadores lineares cruzados, por sua vez, teve um impacto direto na qualidade das imagens de refletância difusa, permitindo que a reflexão especular da amostra saturasse vários pixels. Este problema comprometeu a precisão dos mapas de concentração de desoxihemoglobina (C_{deoxi}) e saturação de oxigênio (SpO_2). Pontos onde C_{deoxi} foi registrada como zero, e consequentemente SpO_2 foi estimada em 100%, indicam falhas metodológicas, uma vez que não

refletem a realidade fisiológica. Estudos prévios utilizando a técnica SFDI demonstram que os valores de SpO_2 na superfície da pele humana tendem a girar em torno de 70% nas regiões de maior saturação (LEE et al., 2020; NGUYEN et al., 2013a, 2013b), tornando evidente a discrepância nos resultados obtidos.

Portanto, melhorias metodológicas são indispensáveis para superar essas limitações. A inclusão de polarizadores lineares cruzados pode mitigar os efeitos da reflexão especular, enquanto o uso de sistemas de captura mais avançados, capazes de considerar movimentos e perfis tridimensionais, pode garantir maior fidelidade na reconstrução das imagens e na análise das propriedades ópticas. Abordagens contínuas e rigorosas nesse sentido são essenciais para assegurar que os dados obtidos representem fielmente as condições biológicas analisadas.

6 CONCLUSÕES

A experiência adquirida na produção dos fantasmas evidenciou que o uso de um agente de cura lenta é mais vantajoso para sua preparação. Catalisadores de cura lenta proporcionam mais tempo para misturar a suspensão, facilitando a remoção eficaz de bolhas de ar geradas durante o processo. Além disso, esses catalisadores permitem o uso de quantidades maiores, possibilitando a dissolução do TiO_2 ou de outros agentes absorvedores diretamente no catalisador, resultando em uma suspensão mais homogênea e, conseqüentemente, fantasmas com aparência final mais uniforme.

Outro ponto relevante foi o uso de um agitador mecânico para misturar os componentes dos fantasmas, reduzindo significativamente o tempo de produção, em comparação à mistura manual, e aumentando a eficiência do processo. A utilização do agitador também garantiu uma distribuição mais uniforme das partículas dos agentes absorvedores e espalhadores na matriz de PDMS, promovendo maior confiabilidade e reprodutibilidade da técnica. Essas melhorias metodológicas, como o uso de catalisadores de cura lenta e a agitação mecânica, resultaram em fantasmas ópticos de melhor qualidade, facilitando sua aplicação em experimentos e medições de propriedades ópticas.

Os fantasmas ópticos produzidos desempenharam um papel fundamental na calibração e validação dos equipamentos utilizados neste estudo. Foi demonstrado que a técnica SFDI possui capacidade de determinar quantitativamente os coeficientes de absorção e espalhamento reduzido nos fantasmas examinados, tornando-se uma ferramenta viável para a obtenção não invasiva de informações clinicamente relevantes sobre o estado de tecidos humanos. Isso inclui parâmetros diagnósticos cruciais, como saturação de oxigênio, concentração de cromóforos e microarquitetura tecidual. Essa abordagem é promissora, pois permite aprimorar significativamente a capacidade de avaliar condições médicas por meio de técnicas ópticas, sem a necessidade de intervenções invasivas.

A partir das simulações de Monte Carlo (MC), foi possível obter a distribuição espacial dos fótons retroespalhados, analisada por meio da função de dispersão de pontos (PSF). Em seguida, foi aplicada a transformada de Fourier para calcular os valores de refletância difusa (R_d) em diferentes frequências espaciais. Os valores de R_d foram coletados em frequências específicas, como 0, 0,05, 0,1, 0,2 e 0,4 mm^{-1} ,

para várias combinações de coeficientes de absorção (μ_a) e espalhamento reduzido (μ_s') no intervalo de $0,001 \leq \mu_a \leq 2,0 \text{ mm}^{-1}$ e $0,5 \leq \mu_s' \leq 2,0 \text{ mm}^{-1}$. Esse banco de dados, gerado para o treinamento da RNA para medir a saturação de oxigênio, incluiu um total de 850.500 amostras. Os cálculos assumiram valores fixos para o índice de refração ($n = 1,4$) e o fator de anisotropia ($g = 0,7$), parâmetros típicos de tecidos biológicos.

Após a geração e o pré-processamento do banco de dados, a rede neural artificial (RNA) foi treinada utilizando uma arquitetura *feedforward* com uma camada oculta de 25 neurônios. Os dados de entrada consistiram em valores de refletância difusa dos dois primeiros componentes principais em cada comprimento de onda, enquanto a camada de saída retornou as concentrações de oxihemoglobina (C_{oxy}) e desoxihemoglobina (C_{deoxy}). A tangente hiperbólica foi usada como função de ativação na camada oculta, e uma função de transferência linear foi aplicada na camada de saída. Para evitar o sobreajuste, os dados foram divididos em conjuntos de treinamento (70%), validação (15%) e teste (15%).

Para avaliar a eficácia desse modelo, foi utilizado o fator de correlação R^2 e um histograma de erros relativos. No caso da oxihemoglobina, foi alcançado um valor de R^2 de 0,997, com os erros relativos predominantemente concentrados no intervalo de -2 a 2%, e uma média de 0,99%. Quanto à desoxihemoglobina, o fator R^2 foi de 0,982, e os erros se concentraram no intervalo de -4 a 4%, com uma média de 0,98%. Além disso, o modelo desenvolvido foi aplicado em um estudo *in vivo*, demonstrando sua viabilidade na aquisição de imagens funcionais da concentração de oxihemoglobina, desoxihemoglobina e saturação de oxigênio.

Os resultados obtidos estiveram em concordância com os de Song et al., que utilizaram um modelo de rede neural profunda para determinar propriedades ópticas, mesmo com 2% de ruído gaussiano nos dados de teste. Isso indica que nosso modelo mantém um desempenho comparável às abordagens de ponta, destacando sua robustez e aplicabilidade prática. Além disso, o treinamento da RNA permitiu a determinação direta dos valores dos cromóforos oxihemoglobina (C_{oxy}) e desoxihemoglobina (C_{deoxy}) e saturação de oxigênio (SpO_2) a partir das medições diretas de refletância difusa com a técnica SFDI.

A técnica desenvolvida e validada neste trabalho demonstrou ser eficaz na geração de mapas de campo amplo de cromóforos presentes no tecido epitelial, assim como na determinação da saturação de oxigênio. A utilização desses mapas

de oxigenação tem o potencial de melhorar significativamente o monitoramento de pacientes em ambientes clínicos. Uma das principais vantagens é a capacidade de identificar regiões propensas à hipóxia ou isquemia, mesmo na ausência de sintomas evidentes. A análise dessas imagens pode permitir intervenções críticas e imediatas, otimizando a resposta a condições clínicas preocupantes de forma mais eficaz e preventiva.

Ademais, a técnica oferece a vantagem de realizar medições quantitativas em tecidos e órgãos de formato irregular, como a pele, sem a necessidade de contato direto. Ao contrário das sondas de contato, que fornecem medições pontuais, os mapas de saturação de oxigênio obtidos com a SFDI fornecem uma visão abrangente das variações de oxigenação em áreas maiores. No entanto, é necessário realizar estudos adicionais para investigar possíveis discrepâncias entre as medições de saturação de oxigênio obtidas pela SFDI e as realizadas com sondas de contato, a fim de aprimorar a precisão e a confiabilidade dessa abordagem.

Além disso, enquanto as sondas de contato exigem tempos prolongados de estabilização (>1 s) para leituras precisas, métodos de aprendizado de máquina são capazes de atingir tempos de resposta de até 200 milissegundos para imagens maiores, como de 696×520 pixels (SCHMIDT et al., 2019). Adicionalmente, o sistema SFDI é limitado apenas pela taxa de fluência e pela sensibilidade da câmera (GIOUX et al., 2011). Embora não tenham sido abordadas neste estudo, medições em tempo real (ou seja, aquisição, processamento e visualização simultâneos) representarão, eventualmente, outra vantagem significativa dos sistemas SFDI.

A abordagem integrativa apresentada neste trabalho destaca a aplicação sinérgica da técnica SFDI com a capacidade de aprendizado de máquina da RNA. A validação do sistema SFDI em condições controladas e a posterior aplicação em estudos *in vivo* ressaltam a robustez e a aplicabilidade da técnica para avaliação da oxigenação tecidual. Os resultados obtidos neste estudo piloto oferecem insights sobre o potencial clínico dessa abordagem inovadora, promovendo avanços na monitorização e avaliação da oxigenação em contextos biomédicos.

7 PERSPECTIVAS FUTURAS

Embora o sistema SFDI descrito possa extrair informações fisiologicamente relevantes sobre o estado do tecido, é importante reconhecer várias limitações nesse estudo. Um sistema de imagens clínicas com impacto significativo no atendimento ao paciente deve ser integrado eficientemente ao fluxo de trabalho clínico, sendo capaz de adquirir e exibir informações em tempo real a uma taxa superior a 1 quadro por segundo (GIOUX et al., 2011). No sistema SFDI proposto nesse trabalho, duas etapas que podem ser aprimoradas para atingir esse objetivo são a aquisição e o processamento das imagens.

Atualmente, o processamento das imagens obtidas por meio da técnica SFDI é realizado após as aquisições utilizando o software MATLAB. Uma possível melhoria seria a integração de algoritmos de aquisição e processamento em uma única plataforma de software, proporcionando ao cirurgião a visualização de mapas de oxigenação em uma taxa de quadros mais rápida do que uma imagem por segundo. Essas considerações destacam a importância da otimização contínua do sistema para atender às demandas práticas e temporais de um ambiente clínico. A busca por soluções que permitam a obtenção e análise de informações em tempo real pode fortalecer a aplicabilidade clínica do sistema SFDI, tornando-o uma ferramenta mais eficaz e prontamente utilizável na prática médica.

Outra limitação é a falta de medidas tridimensionais dos perfis de tecido biológico, que limitam a precisão da reconstrução das imagens. A correção de distorção de imagens é um componente essencial na realização de imagens quantitativas sem contato *in vivo*. Atualmente, é necessário implementar um método de perfilometria ao sistema SFDI, pois ele gera ruídos durante as medidas das amplitudes de modulação do meio (M_{AC} e M_{DC}) devido às incertezas nas estimativas das diferenças de altura na superfície das amostras. Esses ruídos acabam propagando incertezas e resultam em um erro maior nas medições de oxigenação.

Métodos de perfilometria de superfície baseados na projeção de múltiplas frequências espaciais poderiam aprimorar a aquisição de perfis de superfície, revelando variações na altura da amostra e mantendo a resolução (GIOUX et al., 2011). O aprimoramento da resolução da altura por meio desses métodos não apenas otimizaria a qualidade das imagens, mas também fortaleceria a capacidade

do sistema SFDI em fornecer informações quantitativas precisas em contextos clínicos e biomédicos.

Por fim, é essencial implementar o acoplamento de polarizadores lineares cruzados no sistema SFDI para melhorar a qualidade das imagens obtidas. A ausência desses polarizadores resultou em um impacto direto na precisão das imagens de refletância difusa, permitindo que a reflexão especular da amostra saturasse diversos pixels. Essa saturação comprometeu significativamente a confiabilidade dos mapas de concentração de desoxihemoglobina (C_{deoxi}), afetando diretamente a qualidade e a acurácia dos mapas de saturação de oxigênio (SpO_2). A integração desses polarizadores ao sistema não apenas mitigaria a interferência causada pela reflexão especular, mas também asseguraria uma análise mais representativa e fidedigna das propriedades ópticas das amostras estudadas.

REFERÊNCIAS

- ABDI, H.; WILLIAMS, L. J. Principal component analysis. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics**, v. 2, p. 433–459, 2010. <https://doi.org/10.1002/wics.101>
- AHMED, S. N. Position-sensitive detection and imaging. In: **Physics and engineering of radiation detection**. 2. ed. [s.l.] Elsevier Inc, 2015. p. 435–475. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801363-2.00007-3>
- AL-NAJI, A. et al. Non-contact spo2 prediction system based on a digital camera. **Applied Sciences (Switzerland)**, v. 11, n. 9, p. 4255, 2021. <https://doi.org/10.3390/app11094255>
- ALHARBI, S. et al. Oxygen saturation measurements from green and orange illuminations of multi-wavelength optoelectronic patch sensors. **Sensors**, v. 19, n. 1, p. 1–17, 2019. <https://doi.org/10.3390/s19010118>
- ANGELO, J. et al. Ultrafast optical property map generation using lookup tables. **Journal of Biomedical Optics**, v. 21, n. 11, p. 110501, 2016. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.21.11.110501>
- APPLEGATE, M. B. et al. OpenSFDI: an open-source guide for constructing a spatial frequency domain imaging system. **Journal of Biomedical Optics**, v. 25, n. 01, p. 1, 10 jan. 2020. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.25.1.016002>
- AYERS, F. et al. Fabrication and characterization of silicone-based tissue phantoms with tunable optical properties in the visible and near infrared domain. **Design and Performance Validation of Phantoms Used in Conjunction with Optical Measurements of Tissue**, v. 6870, n. February, p. 687007, 2008. <https://doi.org/10.1117/12.764969>
- BARMAN, I. et al. Rapid and accurate determination of tissue optical properties using least-squares support vector machines. **Biomedical Optics Express**, v. 2, n. 3, p. 592–599, 2011. <https://doi.org/10.1364/BOE.2.000592>
- BISHOP, C. M. **Neural Networks for Pattern Recognition**. 1. ed. Oxford: Oxford University Press, 1996. <https://doi.org/10.1201/9781420050646.ptb6>
- BOREMAN, G. D. MTF in Optical Systems. In: **Modulation Transfer Function in Optical and Electro-Optical Systems**. 2. ed. Bellingham: SPIE Press, 2021. p. 1–38. <https://doi.org/10.1117/3.2581373.ch2>
- CAMMAROTA, C. et al. An Axon-Pathfinding Mechanism Preserves Epithelial Tissue

Integrity. **Current Biology**, v. 30, n. 24, p. 5049- 5057.e3, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.09.061>

CAO, R. et al. Metal-organic framework functionalized polymer coating for fiber optical methane sensors. **Sensors and Actuators: B. Chemical**, v. 324, n. July, p. 128627, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.128627>

CDC. **About Non-Ionizing Radiation**. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/radiation-health/about/non-ionizing-radiation.html>>. Acesso em: 28 ago. 2024.

CHEN, M. T.; DURR, N. J. Rapid tissue oxygenation mapping from snapshot structured-light images with adversarial deep learning. **Journal of Biomedical Optics**, v. 25, n. 11, p. 1–12, 2020. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.25.11.112907>

CUCCIA, D. J. et al. Quantitation and mapping of tissue optical properties using modulated imaging. **Journal of Biomedical Optics**, v. 14, n. 2, p. 024012–024025, 2009. <https://doi.org/10.1117/1.3088140>

DENG, W. et al. Hybrid 3D analytical linear energy transfer calculation algorithm based on precalculated data from Monte Carlo simulations. **Medical Physics**, v. 47, n. 2, p. 745–752, 2020. <https://doi.org/10.1002/mp.13934>

DEPREZ, M.; ROBINSON, E. C. **Machine Learning for Biomedical Applications: With Scikit-Learn and PyTorch**. 1. ed. London: Elsevier Ltd., 2022.

ERICKSON, T. A. et al. Lookup-table method for imaging optical properties with structured illumination beyond the diffusion theory regime. **Journal of Biomedical Optics**, v. 15, n. 3, p. 036013-1- 03013–9, 2010. <https://doi.org/10.1117/1.3431728>

ESTERMANN, S. J.; PAHR, D. H.; REISINGER, A. Quantifying tactile properties of liver tissue, silicone elastomers, and a 3D printed polymer for manufacturing realistic organ models. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 104, n. January, p. 103630, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2020.103630>

FAWZY, A. et al. Clinical Outcomes Associated With Overestimation of Oxygen Saturation by Pulse Oximetry in Patients Hospitalized With COVID-19. **JAMA Network Open**, v. 6, n. 8, p. E2330856, 2023. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2023.30856>

FREDRIKSSON, I.; LARSSON, M.; STRÖMBERG, T. Machine learning for direct oxygen saturation and hemoglobin concentration assessment using diffuse reflectance spectroscopy. **Journal of Biomedical Optics**, v. 25, n. 11, p. 1–16, 2020. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.25.11.112905>

- GIOUX, S. et al. First-in-human pilot study of a spatial frequency domain oxygenation imaging system. **Journal of Biomedical Optics**, v. 16, n. 08, p. 086015, 2011. <https://doi.org/10.1117/1.3614566>
- GIOUX, S.; MAZHAR, A.; CUCCIA, D. J. Spatial frequency domain imaging in 2019: principles, applications, and perspectives. **Journal of Biomedical Optics**, v. 24, n. 7, p. 071613–071632, 2019. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.24.7.071613>
- GONÇALVES, M. R. et al. Determination of Oxy and Deoxyhemoglobin Concentrations in Skin Tissue using Spatial Frequency Domain Imaging and Artificial Neural Networks. In: MARQUES, J. L. B. et al. (Eds.). **IX Latin American Congress on Biomedical Engineering and XXVIII Brazilian Congress on Biomedical Engineering**. 1. ed. [s.l.] Springer Cham, 2024. p. 1–6. https://doi.org/10.1007/978-3-031-49404-8_39
- GRAF, L.; PAPP, L.; LANG, S. OBIA4RTM–towards an operational open-source solution for coupling object-based image analysis with radiative transfer modelling. **European Journal of Remote Sensing**, v. 00, n. 00, p. 1–12, 2020. <https://doi.org/10.1080/22797254.2020.1810132>
- GRAHAM, H. K. et al. Human Skin: Composition, Structure and Visualisation Methods. In: LIMBERT, G. (Ed.). **Studies in Mechanobiology, Tissue Engineering and Biomaterials**. Switzerland: Springer Nature Switzerland AG, 2019. https://doi.org/10.1007/978-3-030-13279-8_1
- GREENHALGH, T. et al. Remote management of covid-19 using home pulse oximetry and virtual ward support. **The BMJ**, v. 372, p. 1–8, 2021. <https://doi.org/10.1136/bmj.n677>
- GROSSWEINER, L. I. et al. **The Science of Phototherapy: An Introduction**. 1. ed. [s.l.] Springer, 2005.
- HALBOUB, E. et al. Orofacial manifestations of COVID-19: a brief review of the published literature. **Brazilian Oral Research**, v. 34, p. 1–10, 2020. <https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2020.vol34.0124>
- HALLIDAY, D.; RESNICK, R.; WALKER, J. All About Atoms. In: JOHNSON, S. et al. (Eds.). **Fundamentals of Physics**. 10. ed. [s.l.] John Wiley & Sons, Inc, 2014. p. 1219–1245.
- HELTON, M.; MYCEK, M.-A.; VISHWANATH, K. Direct estimation of the reduced scattering coefficient from experimentally measured time-resolved reflectance via Monte Carlo based lookup tables. **Biomedical Optics Express**, v. 11, n. 8, p. 4366,

2020. <https://doi.org/10.1364/BOE.398256>

HENNESSY, R. et al. Monte Carlo lookup table-based inverse model for extracting optical properties from tissue-simulating phantoms using diffuse reflectance spectroscopy. **Journal of Biomedical Optics**, v. 18, n. 3, p. 037003, 2013. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.18.3.037003>

JACQUES, S. L. Optical properties of biological tissues: a review. **Physics in Medicine and Biology**, v. 58, n. 14, p. 5007–5008, 2013. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/58/14/5007>

JACQUES, S. L.; PRAHL, S. A. **Reduced scattering coefficient**. Disponível em: <<https://omlc.org/classroom/ece532/class3/musp.html>>. Acesso em: 14 jun. 2020.

JOVEL, J.; GREINER, R. An Introduction to Machine Learning Approaches for Biomedical Research. v. 8, n. December, p. 1–15, 2021. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.771607>

KENNEDY, G. T. et al. Solid tissue simulating phantoms having absorption at 970 nm for diffuse optics. **Journal of Biomedical Optics**, v. 22, n. 7, p. 076013, 2017. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.22.7.076013>

KIM, P. **MATLAB Deep Learning: With Machine Learning, Neural Networks and Artificial Intelligence**. 1. ed. Seoul: Apress, 2017. <https://doi.org/10.1007/978-1-4842-2845-6>

KONG, L. et al. Non-contact detection of oxygen saturation based on visible light imaging device using ambient light. **Optics Express**, v. 21, n. 15, p. 17464, 2013. <https://doi.org/10.1364/OE.21.017464>

KULIKOV, K.; KOSHLAN, T. Methods Describing the Interaction of Laser Radiation with Biological Tissues. In: GERSTMAN, B. S. (Ed.). **Laser Interaction with Heterogeneous Biological Tissue**. 2. ed. [s.l.] Springer International Publishing, 2018. p. 1–8. https://doi.org/10.1007/978-3-319-94114-1_1

LEE, S. et al. SFDI biomarkers provide a quantitative ulcer risk metric and can be used to predict diabetic foot ulcer onset. **Journal of Diabetes and its Complications**, v. 34, n. 9, p. 107624, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2020.107624>

LEY, S. et al. Phantom materials mimicking the optical properties in the near infrared range for non-invasive fetal pulse oximetry. **2014 36th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society**, p. 1432–1435, 2014. <https://doi.org/10.1109/EMBC.2014.6943869>

- LISTER, T.; WRIGHT, P. A.; CHAPPELL, P. H. Optical properties of human skin. **Journal of Biomedical Optics**, v. 17, n. 9, p. 090901–1, 2012. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.17.9.090901>
- LIU, G. et al. Fabrication of a multilayer tissue-mimicking phantom with tunable optical properties to simulate vascular oxygenation and perfusion for optical imaging technology. v. 57, n. 23, p. 6772–6780, 2018. <https://doi.org/10.1364/AO.57.006772>
- LU, R. **Light Scattering Technology for Food Property, Quality and Safety Assessment**. 1. ed. Boca Raton: CRC Press - Taylor & Francis Group, 2016. <https://doi.org/10.1201/b20220-2>
- LYU, L. et al. The application of SFDI and LSI system to evaluate the blood perfusion in skin flap mouse model. **Lasers in Medical Science**, v. 37, n. 2, p. 1069–1079, 2022. <https://doi.org/10.1007/s10103-021-03354-6>
- MCHALE, M. K.; BERGMANN, N. M.; WEST, J. L. Histogenesis in Three-Dimensional Scaffolds. In: ATALA, A.; LANZA, R. (Eds.). **Handbook of Stem Cells**. 2. ed. Houston, TX, USA: Academic Press, 2012. p. 951–963. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385942-6.00078-0>
- MICHAEL, P. R.; JOHNSTON, D. E.; MORENO, W. A conversion guide: solar irradiance and lux illuminance. **Journal of Measurements in Engineering**, v. 8, n. 4, p. 153–166, 2020. <https://doi.org/10.21595/jme.2020.21667>
- MUCKOM, R. J. et al. Advanced Materials to Enhance Central Nervous System Tissue Modeling and Cell Therapy. **Advanced Functional Materials**, v. 30, n. 48, p. 1–24, 2020. <https://doi.org/10.1002/adfm.202002931>
- NADEAU, K. P.; DURKIN, A. J.; TROMBERG, B. J. Advanced demodulation technique for the extraction of tissue optical properties and structural orientation contrast in the spatial frequency domain. **Journal of Biomedical Optics**, v. 19, n. 5, p. 056013, 2014. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.19.5.056013>
- NGUYEN, J. Q. et al. Spatial frequency domain imaging of burn wounds in a preclinical model of graded burn severity. **Journal of Biomedical Optics**, v. 18, n. 6, p. 066010, 2013a. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.18.6.066010>
- NGUYEN, J. T. et al. A novel pilot study using spatial frequency domain imaging to assess oxygenation of perforator flaps during reconstructive breast surgery. **Annals of Plastic Surgery**, v. 71, n. 3, p. 308–315, 2013b. <https://doi.org/10.1097/SAP.0b013e31828b02fb>
- NINNI, P. DI; MARTELLI, F.; ZACCANTI, G. The use of India ink in tissue-simulating

- phantoms. **Optics Express**, v. 18, n. 26, p. 26854–26865, 2010. <https://doi.org/10.1364/OE.18.026854>
- NTOMBELA, L.; ADELEYE, B.; CHETTY, N. Low-cost fabrication of optical tissue phantoms for use in biomedical imaging. **Heliyon**, v. 6, n. 3, p. 1–8, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03602>
- PRAHL, S. A.; JACQUES, S. L. **Optical Absorption of Hemoglobin**. Disponível em: <<https://omlc.org/spectra/hemoglobin/>>. Acesso em: 28 ago. 2024.
- PRAHL, S. A.; VAN GEMERT, M. J. C.; WELCH, A. J. Determining the optical properties of turbid media by using the adding–doubling method. **Applied Optics**, v. 32, n. 4, p. 559–568, 1993. <https://doi.org/10.1364/AO.32.000559>
- ROWLAND, R. et al. Monitoring kidney optical properties during cold storage preservation with spatial frequency domain imaging. **Journal of Biomedical Optics**, v. 24, n. 11, p. 116003, 2019. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.24.11.116003>
- SAAGER, R. B. et al. Low-cost tissue simulating phantoms with adjustable wavelength-dependent scattering properties in the visible and infrared ranges. **Journal of Biomedical Optics**, v. 21, n. 6, p. 067001, 2016. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.21.6.067001>
- SAAGER, R. B. et al. Impact of hemoglobin breakdown products in the spectral analysis of burn wounds using spatial frequency domain spectroscopy. **Journal of Biomedical Optics**, v. 24, n. 02, p. 020501, 2019. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.24.2.020501>
- SAIDIAN, M. et al. Characterisation of impaired wound healing in a preclinical model of induced diabetes using wide-field imaging and conventional immunohistochemistry assays. **International Wound Journal**, v. 16, n. 1, p. 144–152, 2019. <https://doi.org/10.1111/iwj.13005>
- SANG, T. T. et al. ANN coupled with Monte Carlo simulation for predicting the concentration of acids. **Applied Radiation and Isotopes**, v. 169, p. 109563, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2020.109563>
- SCHMIDT, M. et al. Real-time, wide-field, and quantitative oxygenation imaging using spatiotemporal modulation of light. **Journal of Biomedical Optics**, v. 24, n. 07, p. 1, 13 mar. 2019. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.24.7.071610>
- SHANKER, M.; HU, M. Y.; HUNG, M. S. Effect of Data Standardization on Neural Network Training. **Omega**, v. 24, n. 4, p. 385–397, 1996. [https://doi.org/10.1016/0305-0483\(96\)00010-2](https://doi.org/10.1016/0305-0483(96)00010-2)

- SILVA, I. N. DA et al. **Artificial Neural Networks: A Practical Course**. 1. ed. [s.l.] Springer Cham, 2017.
- SINHA, A. A.; DEY-RAO, R. Pathogenesis of Cutaneous Lupus. In: WALLACE, D.; HAHN, B. H. (Eds.). **Dubois' Lupus Erythematosus and Related Syndromes**. 9. ed. [s.l.] Elsevier, 2018. p. 305–316. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-47927-1.00022-0>
- SONG, B. et al. Ultracompact Deep Neural Network for Ultrafast Optical Property Extraction in Spatial Frequency Domain Imaging (SFDI). **Photonics**, v. 9, n. 5, 1 maio 2022. <https://doi.org/10.3390/photonics9050327>
- STEELMAN, Z. A. et al. Light-scattering methods for tissue diagnosis. **Optica**, v. 6, n. 4, p. 479, 2019. <https://doi.org/10.1364/OPTICA.6.000479>
- TABASSUM, S. et al. Feasibility of spatial frequency domain imaging (SFDI) for optically characterizing a preclinical oncology model. **Biomedical Optics Express**, v. 7, n. 10, p. 4154–4170, 2016. <https://doi.org/10.1364/BOE.7.004154>
- TABASSUM, S. et al. Optical scattering as an early marker of apoptosis during chemotherapy and antiangiogenic therapy in murine models of prostate and breast cancer. **Neoplasia (United States)**, v. 23, n. 3, p. 294–303, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.neo.2021.01.005>
- TARASSENKO, L. et al. Non-contact video-based vital sign monitoring using ambient light and auto-regressive models. **Physiological Measurement**, v. 35, n. 5, p. 807–831, 2014. <https://doi.org/10.1088/0967-3334/35/5/807>
- TRAVERS, J. B. et al. Quantifying skin photodamage with spatial frequency domain imaging: statistical results. **Biomedical Optics Express**, v. 10, n. 9, p. 4676, 2019. <https://doi.org/10.1364/BOE.10.004676>
- TSUI, S.-Y. et al. Modelling spatially-resolved diffuse reflectance spectra of a multi-layered skin model by artificial neural networks trained with Monte Carlo simulations. **Biomedical Optics Express**, v. 9, n. 4, p. 1531–1544, 2018. <https://doi.org/10.1364/BOE.9.001531>
- TUCHIN, V. V. Tissue Optics and Photonics: Light-Tissue Interaction. **Journal of Biomedical Photonics & Engineering**, v. 2, n. 3, p. 98–134, 2015a. <https://doi.org/10.18287/JBPE-2015-1-2-98>
- TUCHIN, V. V. Tissue Optics and Photonics: Biological Tissue Structures. **Journal of Biomedical Photonics & Engineering**, v. 1, n. March, p. 3–21, 2015b. <https://doi.org/10.18287/JBPE-2015-1-1-3>

- TUCHIN, V. V. Tissue Phantoms. In: **Tissue optics : light scattering methods and instruments for medical diagnosis**. 3. ed. Bellingham: Society of Photo-Optical Instrumentation Engineers, 2015c. p. 231–242. <https://doi.org/10.1117/3.1003040>
- TUCHIN, V. V. Polarized light interaction with tissues. **Journal of Biomedical Optics**, v. 21, n. 7, p. 071114-1- 071114–37, 2016. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.21.7.071114>
- VALEUR, B.; BERBERAN-SANTOS, M. N. Absorption of Ultraviolet, Visible, and Near-Infrared Radiation. In: **Molecular Fluorescence: Principles and Applications**. 2. ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2012. p. 33–51.
- VARDAKI, M. Z.; KOURKOUMELIS, N. Tissue Phantoms for Biomedical Applications in Raman Spectroscopy: A Review. **Biomedical Engineering and Computational Biology**, v. 11, p. 1–15, 2020. <https://doi.org/10.1177/1179597220948100>
- VO-DINH, T. **Biomedical Photonics Handbook: Volume I: Fundamentals, Devices, and Techniques**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press: Taylor & Francis Group, 2015. v. 1. <https://doi.org/10.1201/b17290>
- WANG, L.; JACQUES, S. L.; ZHENG, L. MCML-Monte Carlo modeling of light transport in multi-layered tissues. **Computer Methods and Programs in Biomedicine**, v. 47, n. 2, p. 131–146, 1995. [https://doi.org/10.1016/0169-2607\(95\)01640-F](https://doi.org/10.1016/0169-2607(95)01640-F)
- WELCH, A. J.; GEMERT, M. J. C. **Optical-Thermal Response of Laser-Irradiated Tissue**. 2. ed. [s.l.] Springer Dordrecht, 2011. <https://doi.org/10.1007/978-90-481-8831-4>
- WHO. **Coronavirus disease (COVID-19) pandemic**. Disponível em: <<https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>>. Acesso em: 28 ago. 2024.
- WIRKERT, S. J. et al. Robust near real-time estimation of physiological parameters from megapixel multispectral images with inverse Monte Carlo and random forest regression. **International Journal of Computer Assisted Radiology and Surgery**, v. 11, n. 6, p. 909–917, 2016. <https://doi.org/10.1007/s11548-016-1376-5>
- YUDOVSKY, D.; DURKIN, A. J. Spatial frequency domain spectroscopy of of two layer media. **Journal of Biomedical Optics**, v. 16, n. 10, p. 107005, 2011. <https://doi.org/10.1117/1.3640814>
- ZHAO, Y. et al. Direct mapping from diffuse reflectance to chromophore concentrations in multi-fx spatial frequency domain imaging (SFDI) with a deep

residual network (DRN). **Biomedical Optics Express**, v. 12, n. 1, p. 433–443, 2021.

<https://doi.org/10.1364/BOE.409654>

ZONIOS, G.; DIMOU, A. Modeling diffuse reflectance from homogeneous semi-infinite turbid media for biological tissue applications: a Monte Carlo study.

Biomedical Optics Express, v. 2, n. 12, p. 3284–3294, 2011.

<https://doi.org/10.1364/BOE.2.003284>