

Investigação no Ensino de Engenharia Biomédica: dois casos de estudo

J. Seabra¹, J. Sanches², F. Viola¹, A. C. Dinis³, J. Mendanha⁴, L. M. Pedro³, P. Brogueira⁴, M. T. Peña⁴

1. Instituto Superior Técnico.

2. Departamento de Engenharia Electrotécnica e Computadores, Instituto Superior Técnico.

3. Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa.

4. Departamento de Física, Instituto Superior Técnico, Av. Rovisco Pais, 1049-001 Lisboa, Portugal.

RESUMO: Desde os anos oitenta que os avanços das ciências básicas e das ciências da engenharia têm dado um impulso sem precedentes à investigação médica, o que criou as condições para a afirmação da Engenharia Biomédica como ramo autónomo da Engenharia. Este novo ramo da Engenharia impôs-se em domínios que incluem a imagiologia biomédica, a bioinformática, a biotecnologia, a biomecânica, os biomateriais, a engenharia de tecidos, próteses e órgãos artificiais, a análise e modelação de sinais fisiológicos e a gestão de sistemas de saúde. Já no século XXI, o volume de saber acumulado e a motivação para acelerar desenvolvimentos científicos e tecnológicos, levou à criação e organização nas universidades de uma oferta de cursos de graduação e pós-graduação adequada em Engenharia Biomédica. Apesar do espectro muito largo da Engenharia Biomédica e dos cursos criados, é possível, mesmo ao nível de Mestrado pós-Bologna (licenciatura pré-Bologna), dar uma formação avançada que permita aos alunos realizar trabalhos de investigação complexos e com impacto clínico. Neste artigo apresentamos dois destes casos de sucesso, representativos do papel da investigação ao longo do ensino bem actual da Engenharia Biomédica. No primeiro, intitulado "Caracterização Tridimensional da Placa de Ateroma da Bifurcação Carotídea com Ultrasonografia 3D", é apresentado um método inovador de diagnóstico da Aterosclerose, baseado na reconstrução e caracterização tridimensional da lesão aterosclerótica ao nível da bifurcação carotídea. O segundo trabalho, intitulado "Reconstrução da Frente de Onda e Simulação da Acuidade Visual no Estudo do Impacto das Aberrações Ópticas em Olhos Submetidos a Cirurgia", apresenta uma ferramenta computacional que gera informação adicional sobre a medição da frente de onda obtida com aparelhos comerciais, permitindo estudar o impacto de aberrações ópticas na acuidade visual de diferentes olhos. Este artigo está organizado em quatro partes. A primeira parte é uma nota histórica introdutória à Engenharia Biomédica em geral. A segunda parte apresenta o que do ponto de vista de ensino superior em Engenharia Biomédica, ao nível de Mestrado Integrado de 1º e 2º ciclos, pode em geral viabilizar a fácil inserção dos estudantes na Investigação, conduzindo-os de imediato a resultados de investigação concretos. A terceira parte constitui a parte central deste artigo onde se apresentam dois exemplos ilustrativos do sucesso da formação de 5 anos em Engenharia Biomédica e da inserção da investigação, desde muito cedo, nessa formação. Por fim, na quarta secção apresentam-se as conclusões.

Palavras-chave: engenharia biomédica, ultrasonografia 3d, placa de ateroma da bifurcação carotídea, acuidade visual, aberrações ópticas, ensino e investigação.

Research within the curricula of Biomedical Engineering Degree: two study cases

ABSTRACT: Since the 1980's crucial advances in different basic and engineering sciences increasingly paved the way to a crossing-over between Engineering and Medicine, generating an unprecedented progress in the modern domain of biomedical research. These recent developments have finally established Biomedical Engineering as an autonomous branch of Engineering. This new branch of Engineering asserts itself in a variety of problems, namely, biomedical imaging, bioinformatics, biotechnology and genetics at the cellular and molecular levels, biomechanics, biomaterials and tissue Engineering, artificial organs,

analysis of physiological signals and pattern recognition, and even management of health systems. With the beginning of the XXI, the important amount and quality of knowledge gathered, together with the motivation to boost even further possible technological and scientific developments, for social and economical reasons, layed the foundations for the first offers of university degrees, along with specialized post-graduations, in Biomedical Engineering. Naturally, the courses sustaining those newly born degrees provide a broad training, as a rule. Nonetheless, it is possible, even at the level of the Masters degree, defined within the current framework of the Bologna reform of high education in Europe, to give an advanced training, allowing the students to participate actively in the already on-going research of groups and institutes. In this article we present two cases of success, which reflect the significance and role of professional research in the training of a Biomedical Engineer. These two cases are studies performed by under-graduate students during the last six months (only) of their senior year. As an outcome, these studies bought innovative possibilities of diagnostic, within two very different areas: ultrasound 3D imaging of arteries and vision acuity related to optic aberrations.

Keywords: biomedics, 3d ultrasound reconstruction, plaque echo-structure at the carotique bifurcation, visual acuity, optical aberrations, teaching and research

Introdução

Nota histórica

A prática moderna da medicina apoiada fortemente em equipamentos tecnológicos que ultrapassam, pelo menos em dimensão, os instrumentos tradicionais do médico, como o estetoscópio e o termómetro, nasceu no início do século passado. Os avanços das ciências básicas (física, química, biologia, fisiologia, farmacologia, etc.) e das ciências da engenharia (electrónica, mecânica, informática, materiais, etc.) vieram então dar um impulso sem precedentes à investigação médica. Em 1903, Willem Einthoven desenvolveu o primeiro electrocardiógrafo e fez os primeiros registos eléctricos associados com os batimentos cardíacos, abrindo caminhos para a medicina cardiovascular e a medição de sinais bio-eléctricos, descoberta pela qual recebeu o Prémio Nobel da Medicina em 1924¹. Outra importante descoberta, os raios-X em 1895 por Roentgen, ganha uma importância sem precedentes na medicina clínica já que abre o corpo humano à observação médica não intrusiva. Inicialmente os raios-X foram usados para observar fracturas ósseas mas, com o recurso a um alargado conjunto de materiais rádio-opacos, o seu campo de acção foi rapidamente alargado à imagiologia de outros órgãos¹. Nomeadamente nas neurociências, em Portugal, o Professor Egas Moniz inventou a angiografia, utilizando de forma inovadora raios-X para produzir imagens de vasos sanguíneos, que permitiam deduzir, através dos seus desvios, a presença de massas tumorais. Os electrocardiogramas e os raios-X deram aos médicos a capacidade de realizar diagnósticos de forma precisa e rápida. O desenvolvimento em 1939 da primeira máquina coração-pulmão artificial é um reflexo do estado da tecnologia à data, abrindo novos caminhos às intervenções cirúrgicas.

O desenvolvimento de novas técnicas de imagem médica tais como a tomografia computadorizada (CT) ou a

ressonância magnética (MRI) deve-se em grande medida à grande revolução no poder de cálculo e nas tecnologias de processamento e armazenamento da informação. O actual impacto clínico das técnicas de imagiologia motivou uma rápida expansão das técnicas disponíveis, o que por seu lado trouxe melhorias de sensibilidade e resolução (espacial e temporal). Entre algumas das técnicas de imagiologia de vanguarda, recentemente introduzidas em ambiente clínico tem-se por exemplo a ressonância magnética paralela², a tomografia computadorizada multidetector³, a Ultrasonografia tridimensional⁴ ou os instrumentos multimodais combinando tomografia de emissão de positrões com tomografia computadorizada de raios-X⁵.

Esta rápida evolução nas aplicações gerou a necessidade de oferta pelas universidades de cursos de mestrado e doutoramento específicos em imagiologia. A título de exemplo referira-se que dos 84 programas incluídos na base de dados de curricula em Engenharia Biomédica da Fundação Whitaker, 25 oferecem programas de doutoramento específicos em imagiologia e muitos outros permitem percursos individuais com uma forte componente de formação em imagiologia⁶, cujo traço comum inclui simultaneamente fundamentos físicos da imagem, processamento de sinal e teoria de sistemas lineares.

Cirurgias que implantam “peças sobresselentes”, órgãos artificiais, são actualmente rotina. O primeiro transplante renal, em 1954, abriu a porta para o conceito de órgãos artificiais e entrou no léxico médico. A tecnologia permitiu desenvolver dispositivos protésicos como, por exemplo, válvulas cardíacas ou vasos sanguíneos artificiais. No entanto tem-se tornado aparente que são muito poucos os materiais que implantados no corpo humano sejam verdadeiramente biocompatíveis. A área de biomateriais tornou-se assim um activo campo de investigação. De uma forma mais dirigida procurando soluções de biocompatibilidade por exemplo através

da utilização de novos materiais depositados sobre os implantes⁷. Ou produzindo materiais nanoestruturados ao nível molecular (por Langmuir-Blodgett⁸, por monocamadas auto-fabricadas⁹) ou, mais recentemente, por deposição camada a camada (LBL)¹⁰ que apresentam um alargado campo de aplicação na área da engenharia biomédica, por serem de fácil fabricação, terem elevada versatilidade, capacidade de incorporarem diferentes tipos e teores de biomoléculas nos filmes, elevado controlo da estrutura do material e robustez sob variadas condições ambientes e fisiológicas. Estas propriedades transformam-nos em excelentes candidatos a aplicações de fabricação por biomimetização, em biosensores, em doseamento e transporte molecular de medicamentos, na imobilização de proteínas e células, na mediação de funções celulares e em materiais implantáveis⁸⁻¹³.

A necessidade de medir e interpretar a resposta de sistemas biológicos e fisiológicos no seu meio natural ou perante estímulos externos (quer no controlo de patologias com recurso a dispositivos biomédicos, e.g., bombas de insulina, quer na compreensão de mecanismos fisiológicos, e.g., pressão sanguínea, níveis de glucose ou ritmos cardíacos e respiratórios) motivou o desenvolvimento da área de biosistemas e biosinais que actua ao nível de processamento de sinal e de sistemas dinâmicos. Assim, no contexto da modelação matemática de processos fisiológicos ou de dinâmica biológica, recorre-se a técnicas e conceitos de teoria de sinal (análise de Fourier, convolução, funções impulso, amostragem, etc.), de resposta no tempo e em frequência (funções de transferência, sistemas lineares, etc.) e a sistemas de controlo (realimentação, estabilidade, etc.)¹⁴.

As microtecnologias encontram também na engenharia biomédica um enorme campo de desenvolvimento, tanto científico como tecnológico. O "lab-on-a-chip" (LOC) nasce assim da integração das tradicionais tecnologias da micro-electrónica de actuação e detecção, com a funcionalização de materiais para interacções específicas com materiais biológicos assim como micro dispositivos electro mecânicos (MEMS)¹⁵ ou técnicas de micro-fluídos capazes de escoar eficientemente quantidades ínfimas de fluido até aos sensores¹⁶⁻¹⁷. As suas aplicações são vastas: administração de medicamentos, ensaios celulares, análises proteicas ou genómicas, etc.¹⁸. Realçamos ainda o papel da nanomicrotecnologia na nova geração de micro-eléctrodos, necessários por exemplo para o tratamento de casos extremos de doença de Parkinson, através de estimulação cerebral profunda. Esta técnica implica implantar eléctrodos que conduzem pulsos eléctricos de alta frequência, para "desligar" partes do cérebro que causam os sintomas da doença¹⁹. Ao contrário dos eléctrodos convencionais com espessura de milímetros, os nano-eléctrodos, flexíveis e com dimensões inferiores às dos glóbulos vermelhos, apresentam menos riscos para a vasculatura do cérebro, e podem ser implantados sem recurso a intervenções cirúrgicas maiores.

Para sintetizar toda esta variedade multifacetada das

actividades em Engenharia Biomédica, citamos a definição bem operacional do National Institutes of Health nos Estados Unidos:

"A engenharia biomédica integra as ciências físicas, químicas, matemáticas e computacionais, e os princípios da engenharia para estudar biologia, medicina, comportamento e saúde. Estabelece conceitos fundamentais; cria conhecimento desde o nível molecular até ao nível dos órgãos; desenvolve materiais, processos e implantes biológicos, métodos de instrumentação e informática inovadores para a prevenção, diagnóstico e tratamento da doença, reabilitação e melhoria da saúde."

Em suma, a Engenharia Biomédica engloba sub-domínios nucleares ou eixos científicos variados*, que podemos assim enumerar:

Bioinstrumentação, para as tecnologias de diagnóstico como, por exemplo, a imagiologia, bem como as novas terapias biofísicas e práticas sofisticadas de cirurgia e engenharia clínica;

Biotecnologia e Bioinformática, ligada à biologia molecular e celular, de onde poderá emergir a (controversa) ciência do *enhancement*, ou aperfeiçoamento, e aos *nanobiochips* que revolucionarão as práticas de monitorização e prevenção médicas;

Biomecânica e Biomateriais, dedicados à mecânica do corpo humano, nos seus aspectos estruturais e funcionais, visando muito directamente aplicações clínicas e cirúrgicas, relacionadas com tecnologias de reabilitação e de implantação de órgãos artificiais;

Modelação de sistemas biológicos, conduzindo à compreensão de sistemas fisiológicos, através da aquisição de dados de parâmetros fisiológicos e/ou a computação complexa.

Gestão de sistemas de saúde, exigindo cada vez mais a associação da realidade social e económica à tecnológica e científica e com objectivos tanto estratégicos como mesmo apenas operacionais.

Os dois trabalhos que vão ser relatados neste artigo incluem-se na primeira e quarta destas cinco categorias.

Engenharia Biomédica no IST

A nível global e em particular nos EUA, a formação em engenharia biomédica tem crescido de ano para ano com recomendações para aumento²⁰.

Embora as ofertas de formação em Engenharia Biomédica já tenham tradição nos Estados Unidos, na Europa a oferta de graus de ensino em Engenharia Biomédica está ainda a despontar²¹. E, claro, ainda não tem a história e tradição dos graus nas engenharias clássicas, que remontam nas suas bases à ciência dos séculos XVIII a XX (o Imperial College criou o BSc. e o MSc. nesta área científica em 2003). Assim, no ano lectivo de 2001/02, o Instituto Superior Técnico (IST), em parceria com a Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa (FMUL)

* Ver, por exemplo, o *web site* da Biomedical Engineering Society, <http://www.bmes.org/about.asp>

foram decisivamente pioneiros na iniciativa de formação superior em Engenharia Biomédica e na introdução das tecnologias e ciências biológicas no ensino da engenharia. Seguiram-se depois, a nível nacional, ofertas de mais cursos superiores de 5 anos, ou Mestrados Integrados, em Engenharia Biomédica, como o do IST, no contexto do Processo de Bologna²², na Universidade de Coimbra, na Universidade Nova de Lisboa, na Universidade do Minho e mais recentemente na Universidade de Lisboa. A formação pré-graduada no IST enquadra-se em dois ciclos integrados e foi acreditada pela Ordem dos Engenheiros em Agosto de 2007. A formação destes novos engenheiros permite-lhes optar por carreiras em ambiente hospitalar (desenvolvimento e suporte metodológico e tecnológico: inovação, controlo de qualidade, interface com empresas), em investigação e desenvolvimento tecnológico em empresas/indústria, em actividades de consultadoria e em investigação científica (iniciada regra geral pela realização de um doutoramento).

Esta formação académica é suportada por actividades de investigação que envolvem múltiplos departamentos do IST e da FMUL e centros de investigação e laboratórios associados. A investigação processa-se actualmente em variadas áreas: Biomateriais e Órgãos Artificiais, Biotecnologia Médica, Nanotecnologias, Biomecânica e Tecnologias de Reabilitação, Imagiologia Biomédica, Análise de Sinal, Bioinformática, Modelação Matemática e sistemas Biológicos ou Gestão de Sistemas de Saúde.

A investigação no Ensino

O fornecimento de hábitos de investigação científica baseia-se na utilização intensiva de meios informáticos e bibliográficos, na elaboração de projectos e trabalhos que promovem a transferência de conceitos e metodologias não apenas entre unidades curriculares e entre diferentes áreas, em especial a Engenharia e a Medicina. Acrescenta-se ainda o papel do exemplo (*role model*) de investigadores e profissionais, permitido pela grande proximidade entre as estruturas de ensino e de investigação.

Enumeramos assim cinco meios essenciais, utilizados no Mestrado Integrado de Engenharia Biomédica do IST, para promover a habituação na recolha e análise de informação:

1. A apresentação de relatórios laboratoriais escritos e de apresentações com discussões orais de sínteses escritas.
2. A existência no currículo de disciplinas de Introdução à Engenharia Biomédica e Temas de Fronteira entre Engenharia e Medicina, de conteúdo eminentemente transversal, com módulos específicos para a aquisição destas competências. Ambas as disciplinas são introdutórias – à realidade da Engenharia Biomédica, no primeiro caso, e à realidade da investigação e desenvolvimento na área, no segundo caso. Estas disciplinas cumprem, por outro lado, um papel integrador num currículo que necessariamente abrange domínios muito diferentes e obrigam o aluno à pesquisa de informação e à apresentação de conclusões.

3. O recurso a meios informáticos (*hardware* e *software*) para analisar e tratar problemas de engenharia com complexidade crescente através de aplicações numéricas a grande escala e programação computacional e como facilitadores imprescindíveis da busca documental, da organização do conhecimento, da visualização, apresentação e comunicação dos resultados.

4. A exposição regular dos alunos a encontros e seminários científicos, com apresentações e discussões públicas, em que participam oradores de diferentes áreas e audiências também compósitas.

5. A permanente proximidade permitida entre alunos aos investigadores dos centros de investigação, que decorre de serem as estruturas de investigação as estruturas que alicerçam o ensino.

Saliente-se se o ensino beneficia da investigação, o inverso também acontece e pode ser medido: no IST ao longo dos primeiros 5 anos de funcionamento do Curso de Engenharia Biomédica aumentou de um factor de seis²³.

Dois casos de investigação no ensino

De seguida apresentamos dois casos de estudo que resultaram do trabalho executado no âmbito das dissertações de Mestrado Integrado em Engenharia Biomédica no IST. Estes trabalhos reflectem de forma clara que é possível, numa formação de apenas cinco anos, integrar com sucesso a investigação no ensino, para iniciar os estudantes em atitudes metodológicas apropriadas e para desenvolver projectos complexos com obtenção de resultados de investigação muito relevantes e aplicação clínica directa.

1. Caracterização Tridimensional da Placa de Ateroma da Bifurcação Carotídea com Ultrasonografia 3D

1.1 Problema

A doença aterosclerótica, com particular incidência nos territórios coronário e cerebrovascular, é a causa de morte e incapacidade física mais frequente nos países ocidentais²⁴. Este artigo descreve um novo método de diagnóstico da lesão aterosclerótica carotídea.

A localização mais frequente da doença no sector cerebrovascular é ao nível da bifurcação carotídea, onde a formação de placas de ateroma tende a limitar o fluxo sanguíneo, designando-se este estreitamento da artéria por *estenose*. Actualmente, o grau de estenose é considerado o principal marcador de risco²⁵ e praticamente o único factor de decisão de intervenção cirúrgica²⁶. Porém, se existem grupos de doentes para os quais a decisão clínica baseada na gravidade da obstrução está perfeitamente clarificada, existe ainda um espectro largo de indivíduos onde a indicação cirúrgica é questionável, sendo, de um ponto de vista estatístico, necessário um grande número de intervenções para que em média o número de AVC's seja reduzido (ver tabela 1).

Quadro Clínico	Nº doentes
Estenose sintomática >70%	8
Estenose sintomática 50 – 70%	20
Estenose assintomática >60%	83

Tabela 1: Número de doentes necessários a tratar (NNT) com endarterectomia para prevenir um AVC em 2 anos

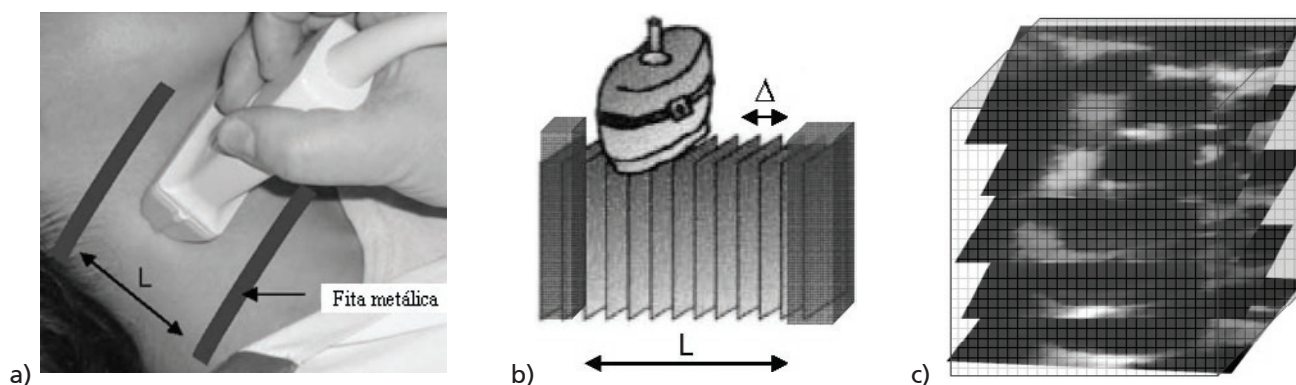


Figura 1: a–b) Protocolo de aquisição. Sonda manipulada livremente ao longo de um percurso pré-definido. c) A sequência de cortes transversais é colocada numa grelha 3D para posteriormente ser reconstruído um volume de interesse.

Assim, foram desenvolvidos novos métodos de diagnóstico e novos indicadores de risco com o objectivo de identificar subgrupos de doentes cujas lesões carotídeas estivessem relacionadas com maior risco clínico. Estes estudos foram conduzidos fundamentalmente usando ultrasonografia, por ser um método não invasivo, pouco dispendioso e disponível na generalidade dos serviços de saúde. O objectivo é a inclusão de parâmetros de análise complementares ao grau de estenose e que possam contribuir para um diagnóstico mais objectivo e completo da doença. De entre os estudos efectuados²⁷ destacam-se aqueles que sugerem que certas características fenotípicas da placa de ateroma estão relacionadas com maior risco de AVC. Existe também consenso quanto à importância dos parâmetros da eco-estrutura da placa na detecção, num estado inicial, de placas instáveis. A ecogenicidade da placa, analisada a partir das respectivas imagens ecográficas, pode ser quantificada usando diferentes indicadores, como a mediana da escala de cinzentos (GSM) e a percentagem total de pixels *ecolucentes*, ou seja, de baixa intensidade, designadamente abaixo do percentil 40 (P40).

A avaliação clássica das características ecográficas das placas faz-se a partir de uma única imagem ecográfica que corresponde a um corte bidimensional seleccionado pelo médico e que constitui claramente uma limitação desta aproximação já que o resultado depende do plano escolhido. Pretende-se, por isso, que o plano seleccionado seja o mais representativo possível da estrutura da lesão. A escolha deste plano é, no entanto, sempre subjectiva e dependente das condições de aquisição das imagens e da experiência do médico. Por outro lado, o método clássico baseado na

ecografia 2D não permite uma inspecção global e exaustiva da extensão, da superfície e da morfologia da placa. Além disso, também não permite a selecção arbitrária dos planos de corte já que alguns deles não estão acessíveis.

1.2 Desenvolvimento do projecto

Pelas razões expostas, a ultrasonografia tridimensional (US-3D)²⁸ surge como solução alternativa com o objectivo de permitir uma análise global e exaustiva da extensão, da superfície, da composição e da morfologia da placa de ateroma.

A. Metodologia experimental

A técnica de US-3D recorre a sequências de imagens US que correspondem a diferentes posições e orientações da sonda ultrassônica que pode ser deslocada mecanicamente, com o auxílio de dispositivos motorizados, ou livremente pelo operador e que geralmente tem acoplado um localizador espacial que permite registar em cada instante a sua posição e orientação. Este equipamento, altamente especializado, apenas se encontra disponível em alguns laboratórios de investigação ou centros clínicos de alta tecnologia.

O método utilizado não utiliza qualquer equipamento adicional além do tradicional ecógrafo. Por esta razão, o método exige um protocolo rígido de aquisição manual de imagens (ver Fig. 1 (a)–(b)) de forma a minimizar erros de alinhamento e distorções na estimativa da anatomia da carótida e da placa de ateroma. A anatomia e localização superficial da carótida permitem manter uma velocidade constante de varrimento da sonda e em simultâneo adquirir uma sequência de planos de corte aproximadamente paralelos entre si e ortogonais ao eixo principal da

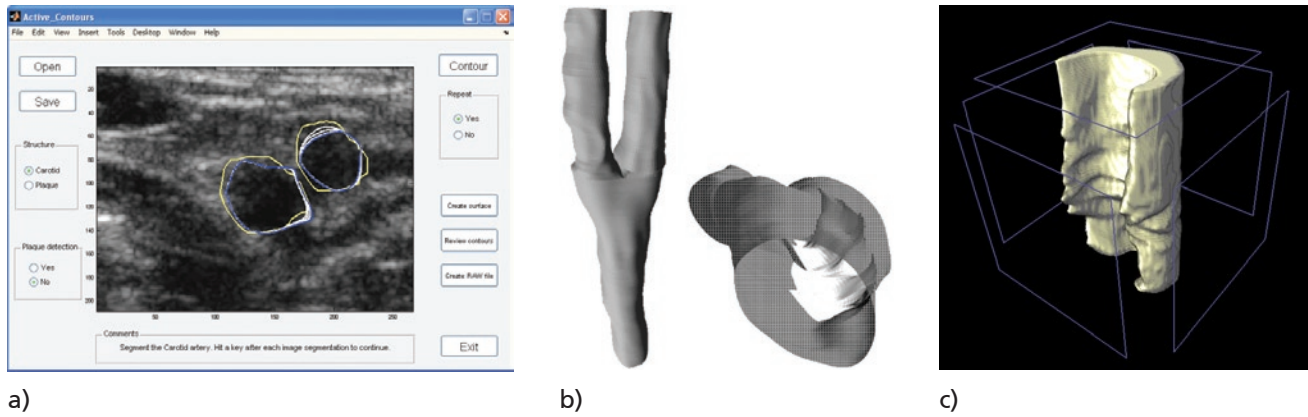


Figura 2: a) Interface gráfico usado na segmentação. b) Superfícies de uma carótida saudável e de outra apresentando lesão aterosclerótica. c) Superfície da placa de ateroma.

artéria, sem introduzir erros significativos que afetem os resultados do diagnóstico.

B. Metodologia Computacional

As imagens ecográficas da sequência $Y = \{y_{i,j}\}$, que correspondem aos cortes transversais da carótida são encaradas como amostras não equi-espaciais da região de interesse (ROI) corrompidas por ruído multiplicativo, designado *speckle*. Estas observações, juntamente com as respectivas estimativas de posições, $X = \{x_{i,j}\}$, são utilizadas para estimar uma função contínua, $f: \Omega \rightarrow \mathbb{R}$, com $\Omega \subset \mathbb{R}^3$, que descreve a ROI, contendo a bifurcação carotídea e a placa de ateroma. O algoritmo utiliza uma metodologia de estimação *Bayesiana*, utilizando um critério de *Maximum a Posteriori* (MAP). A reconstrução da anatomia na ROI é formalizada através do seguinte problema de otimização

$$\hat{F} = \arg \max_F J(Y, X, F)$$

em que $J(Y, X, F)$ é uma função objectivo e $F = \{f_{i,j,k}\}$ é uma matriz de coeficientes que descrevem a função contínua

$$f(x) = \sum_{i,j} f_{i,j,k} \phi_{i,j,k}(x)$$

como uma combinação linear de funções de base $\phi_{i,j,k}(x)$ centradas numa grelha regular tridimensional.

A função objectivo define-se como

$$J(Y, X, F) = J_Y(Y, X, F) + J_F(F)$$

em que $J_Y(Y, X, F) = \log(p(Y | X, F))$ é o termo dos dados e $J_F(F)$ é o prior que permite regularizar a solução, preencher as zonas não observadas por interpolação e combinar múltiplas observações da mesma região.

Assumindo independência das observações

$$p(Y | X, F) = \prod_{i,j} p(y_{i,j} | y_{i,j}, F)$$

em que

$$p(y_{i,j} | y_{i,j}, F) = \frac{y_{i,j}}{f(x_{i,j})} e^{-\frac{y_{i,j}^2}{f(x_{i,j})}}$$

é a distribuição de *Rayleigh* que é usada frequentemente para descrever o ruído *speckle* que corrompe as imagens ecográficas. O prior é uma distribuição de *Gibbs* da forma

$$p(F) = \frac{1}{Z} e^{-\alpha U(F)}$$

em que Z é uma constante de normalização, α um parâmetro que permite ajustar o grau de suavização da solução. Valores elevados de α permitem soluções que convergem mais rapidamente mas fronteiras aparecem mais suavizadas, enquanto valores reduzidos conservam melhor as fronteiras das estruturas de interesse, no entanto com mais ruído. $U(F)$ é a energia de Gibbs que neste caso é a variação total (*Total variation*)⁶

$$U(F) = \sum_{i,j,k} g_{i,j,k}$$

em que

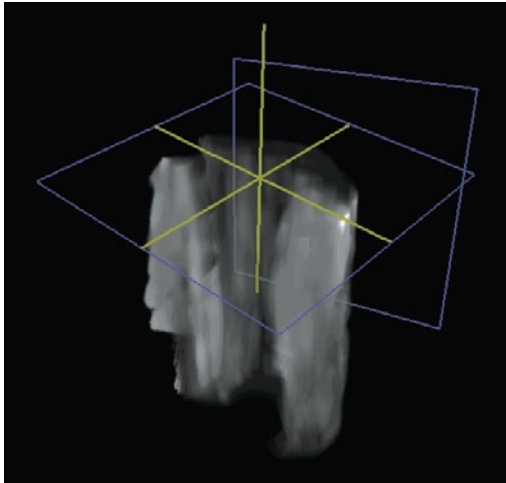
$$g_{i,j,k} = \sqrt{(f_{i,j,k} - f_{i-1,j,k})^2 + (f_{i,j,k} - f_{i,j-1,k})^2 + (f_{i,j,k} - f_{i,j,k-1})^2}$$

é aproximação discreta a magnitude do gradiente da função $f(x)$ calculada no nó $f_{i,j,k}$ da grelha tridimensional. O prior de *Gibbs* baseado na variação total permite suavizar a solução sem degradar as transições, pertencendo portanto à classe dos priors que preservam as transições (*edge preserving priors*).

A maximização da função objectivo é feita usando o método de Gauss-Seidel, que maximiza a função em relação a cada coeficiente mantendo os outros constantes em cada iteração. A solução da equação resultante é feita através do método de Newton-Raphson⁷. A estimativa do coeficiente $f_{i,j,k}^t$ na t -ésima iteração é

$$\hat{f}_{i,j,k}^t = f_k \frac{\frac{6\alpha \bar{f}_k}{g_k} f_k^2 - 2f_k b_k + 3f_k^{ML}}{\frac{6\alpha \bar{f}_k}{g_k} f_k^3 - b_k f_k + 2f_k^{ML}}$$

Uma vez obtido o volume de interesse (ver Fig. 3 (a)), é feito um *re-slicing* que permite gerar mais planos do que os



a)

Figura 3: a) Volume reconstruído da placa de ateroma. b) Caracterização local da sua eco-estrutura. As regiões identificadas como potencialmente vulneráveis são assinaladas a cor.

disponíveis após a aquisição das imagens. Estes são depois processados usando um algoritmo de contornos activos³¹ que permite segmentar as paredes da carótida e da placa de ateroma. Foi concebido um software de segmentação automática, com um interface intuitivo, que permite ao médico visualizar o processo de segmentação e interagir com o mesmo de forma a corrigir manualmente o que estiver a ser incorrectamente feito de forma automática. Designadamente, permite controlar os parâmetros dos contornos ou mesmo redefini-los em cada imagem (ver Fig. 2 (a)).

1.3 Resultados

Apresentamos apenas os dados de dois indivíduos, adquiridos e processados após o seu consentimento relativamente ao protocolo de aquisição usado. Os resultados da reconstrução da superfície das suas carótidas, e num dos casos, da placa de ateroma, são apresentados nas Figs. 2 (b)-(c).

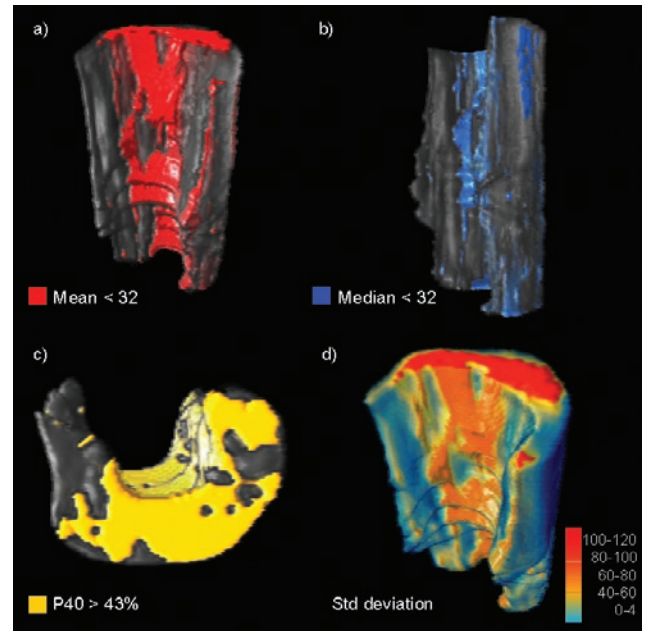
A avaliação da composição da placa foi feita através de estimadores estatísticos derivados directamente da distribuição de *Rayleigh*, procurando desta forma identificar regiões que, pelo seu GSM e P40 são potencialmente mais perigosas (ver Fig. 3 (b)). Os parâmetros usados para a caracterização da placa foram os seguintes:

$$\mu = \sqrt{\frac{\hat{f}(x)\pi}{2}}$$

$$\sigma(x) = \sqrt{\frac{4-\pi}{2}\hat{f}(x)}$$

$$v(x) = \sqrt{2\log(2)\hat{f}(x)}$$

$$P_{40}(x) = 1 - e^{-\frac{40^2}{2\hat{f}(x)}}$$



b)

O diagnóstico é complementado com a quantificação da extensão destas regiões, assim como com a sua localização na placa. Estes parâmetros são apontados como estando directamente relacionados com o risco de AVC.

Resumindo, este trabalho descreve um novo método de avaliação da doença aterosclerótica da carótida baseada na reconstrução 3D a partir de sequências de imagens ecográficas. O método permite minimizar a subjectividade associada ao procedimento clássico de diagnóstico feito com base em apenas uma imagem ecográfica 2D. Assim, a avaliação da lesão aterosclerótica, recorrendo a US-3D e usando métodos computacionais para a reconstrução de volume, segmentação e caracterização da eco-estrutura da placa de ateroma, pode vir a fornecer um contributo importante na forma como a mesma é visualizada, diagnosticada e tratada.

2. Reconstrução da Frente de Onda e Simulação da Acuidade Visual no Estudo do Impacto das Aberrações Ópticas em Olhos Submetidos a Cirurgia

2.1 Problema

O olho humano é constituído por diferentes estruturas das quais se destacam a córnea e o cristalino, as superfícies com poder refractivo, e a retina, que é constituída por diferentes tipos de fotorreceptores sensíveis a diferentes comprimentos de onda de luz. Quando a córnea e o cristalino não conseguem focar a imagem de um objecto correctamente na retina ocorrem erros refractivos. Os erros refractivos mais comuns são miopia, hipermetropia e astigmatismo. Normalmente, estes erros refractivos são corrigidos por meio de óculos ou de lentes de contacto. Contudo, nos últimos anos, a procura por soluções mais avançadas como as cirurgias refractivas tem aumentado drasticamente.



Figura 4: Cirurgia LASIK: corte de uma lamela de córnea usando um microqueratômico (<http://www.nusretbas.com>).

Estas cirurgias têm como princípio base o uso de um laser que permite remover certas partes do tecido da córnea, corrigindo assim o poder refractivo do olho. O tipo de cirurgia mais comum é a LASIK (*LASer In-situ Keratomileusis*) que é feita em dois passos. Primeiro, o cirurgião corta uma lamela de tecido da córnea usando um microqueratômico (Figura 4).

De seguida, a zona da córnea que se pretende tratar fica exposta permitindo o tratamento por meio do laser. Por fim, a lamela de tecido da córnea é repostada. Uma versão mais antiga desta cirurgia é a PRK (*PhotoRefractive Keratectomy*), onde o primeiro passo não é efectuado. Outra forma de corrigir os erros refractivos consiste em recorrer ao uso de lentes intraoculares (IOLs). As lentes intraoculares são também usadas nas cirurgias de cataratas como substitutas do cristalino. Os diferentes tipos de cirurgia apresentam como desvantagem o facto de alterarem as aberrações ópticas do olho, conduzindo por vezes a uma redução da acuidade visual em condições particulares e específicas.

Tal como todos os outros sistemas ópticos, o olho humano apresenta imperfeições denominadas aberrações ópticas. Estas aberrações estão relacionadas com defeitos ópticos e são influenciadas pelo tamanho pupilar, o processo de envelhecimento e também pelas diferentes superfícies refractivas do olho³². Alguns estudos mostraram também que existe uma compensação natural dos diferentes tipos de aberração no olho humano³³.

Normalmente as aberrações são classificadas em aberrações de ordem inferior e aberrações de ordem superior. As primeiras estão associadas aos erros refractivos mencionados anteriormente, enquanto as restantes estão associadas a outros tipos de erros originários noutras

estruturas do olho. Estas aberrações de ordem superior não podem ser corrigidas por meio de óculos ou lentes de contacto e só podem ser detectadas recorrendo a medições da frente de onda do olho.

O equipamento médico usado para este tipo de medição tem o nome de aberrómetro e os mais comuns têm como princípio base o uso de um sensor Hartmann-Schack³⁴. Os resultados típicos do aberrómetro são mapas da frente de onda, funções ópticas e outras métricas como os coeficientes de Zernike³⁵. Contudo, este conjunto de informação por vezes não é suficiente para conseguir facilmente prever a acuidade visual.

Algumas das aplicações mais comuns dos aberrómetros são o uso dos seus resultados no planeamento de cirurgias optimizadas pela medição de frente de onda e também o uso dos coeficientes de Zernike medidos para calcular com maior precisão a refração subjectiva dos olhos³⁶⁻³⁸. As cirurgias optimizadas pela medição da frente de onda, para além de corrigirem as aberrações de ordem inferior, corrigem também as aberrações de ordem superior. A informação da frente de onda medida é convertida num padrão de ablação que é transferido para a plataforma laser usada no bloco operatório.

Embora os resultados deste tipo de cirurgia pareçam promissores, há que lembrar que este tipo de cirurgias é demasiado recente e que os seus efeitos a longo prazo ainda não são conhecidos. Dado a natureza do olho humano, durante o processo de envelhecimento, o cristalino tem tendência para opacificar e perder a capacidade de acomodação do olho jovem. Como há uma compensação natural entre aberrações da córnea e do cristalino³³, hoje em dia existe a preocupação de desenvolver novas técnicas que tenham em conta este fenómeno fisiológico.

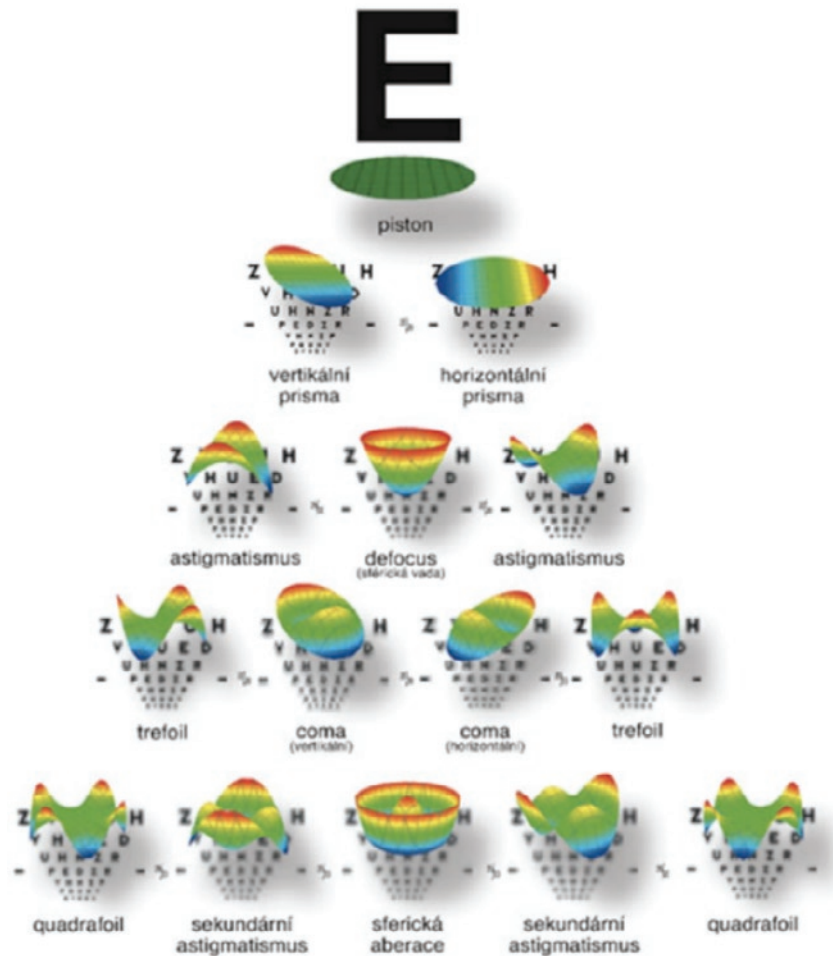


Figura 5: Polinómios de Zernike. Cada polinómio está associado a um tipo de aberração. As duas primeiras linhas representam os termos de ordem inferior, as restantes representam os termos de ordem superior (<http://www.lexum.cz>).

A comunidade científica tenta encontrar novas soluções para estes problemas, nomeadamente a criação de lentes intraoculares que compensem certas aberrações e algoritmos que calculem padrões de ablação tendo em conta o processo de envelhecimento. Este trabalho teve como objectivo principal desenvolver uma ferramenta computacional que complemente a informação obtida usando os waberrómetros actualmente disponíveis no mercado.

2.2 Desenvolvimento do projecto

A ferramenta desenvolvida no projecto reconstrói as frentes de onda recorrendo a um conjunto de funções matemáticas denominado polinómios de Zernike³⁵ e calcula diversas funções ópticas que são usadas como indicadores da acuidade visual. Para além das funções ópticas inclui ainda um conjunto de imagens teste que permitem simular os efeitos das aberrações na acuidade visual.

A. Simulação Computacional

A simulação computacional foi desenvolvida em MATLAB (MathWorks Inc). O programa desenvolvido permite efectuar diferentes análises, tais como a reconstrução da frente de

onda do olho, o cálculo de diferentes funções ópticas e a simulação da acuidade visual usando algumas imagens teste (Quadro de Snellen, grelhas com diferentes frequências espaciais e um círculo branco num fundo negro).

A frente de onda (W_n^m) é reconstruída a partir dos coeficientes de Zernike (C_n^m) através do somatório dos polinómios de Zernike (Z_n^m), normalizados pelo factor (N_n^m). Cada um destes polinómios é constituído por um termo radial ($R_n^m(r)$) e por um termo angular ($A(m\theta)$) (Eq 1). Cada polinómio de Zernike está relacionado com um padrão de aberração (Figura 5).

$$W_n^m = C_n^m Z_n^m$$

$$Z_n^m = N_n^m R_n^m(r) A(m\theta)$$

n - índice radial; m - índice angular.

As principais funções ópticas que descrevem a performance de um sistema óptico são a "função de espalhamento de um ponto" (*Point Spread Function- PSF*), a "função de transferência óptica" (*Optical Transfer Function - OTF*) e a "função de transferência de modulação" (*Modulation Transfer Function - MTF*). Todas estas funções

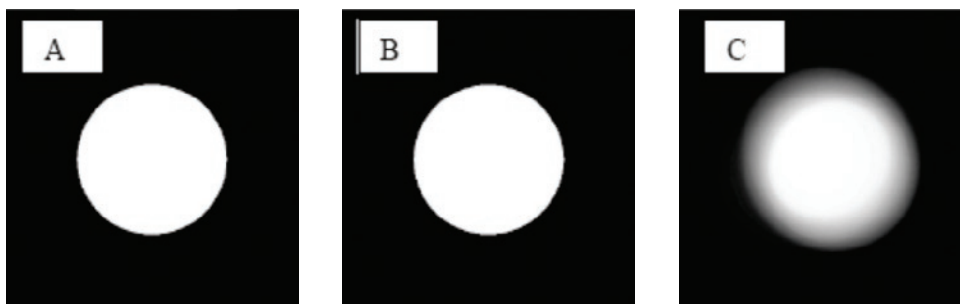


Figura 6: a) Imagem original: simulação de um farol de automóvel em condições nocturnas; b) Imagem simulada para olho dilatado não operado; c) Imagem simulada para olho dilatado operado com cirurgia PRK.

podem ser calculadas usando como base a informação da frente de onda reconstruída.

A PSF é bastante útil para entender o efeito de cada uma das aberrações pois representa a difracção da imagem de um objecto pontual. Na presença de certas aberrações, a imagem de um objecto pontual tem tendência para se tornar distorcida e desfocada, deixando de ser pontual e assumindo uma nova forma dependendo da aberração. Para representar a PSF foram primeiro calculadas outras funções, tendo em conta a fisiologia dos fotorreceptores na retina. Para avaliar a acuidade visual convolveu-se a PSF com diferentes imagens teste. As imagens obtidas foram comparadas com as imagens iniciais de modo a visualizar a degradação produzida pelas aberrações medidas. As imagens simuladas desta forma são imagens retinianas, pois as funções ópticas usadas não têm nenhuma componente neuronal.

O programa desenvolvido também permite avaliar o padrão de aberração medido para diferentes tamanhos de pupila, permitindo assim simular efeitos em condições diurnas e nocturnas. Outra das opções do programa de simulação permite ao utilizador cancelar os diferentes termos medidos, avaliando a contribuição de cada aberração individualmente. Esta opção é bastante útil para estimar a contribuição de cada aberração para a acuidade visual, bem como estudar a interacção ou compensação entre diferentes termos.

B. Aplicação e Estudo Clínico

O estudo clínico decorreu na Clínica Oftalmológica ALM-Oftalmolaser em Lisboa. Neste estudo participaram voluntários não pagos de ambos os sexos com idades entre os 23 e os 79 anos (Média de Idades: 46.00 ± 17.18 anos). Os participantes foram divididos em 3 grupos: 1 – Olhos não operados (N. Op.) – 18 olhos; 2 – Cirurgia com lentes intraoculares (IOLs) fáquicas e afáquicas – 10 olhos; 3 – Cirurgia Refractiva da Córnea (Circ. Refr.) – 14 olhos. Cada um destes grupos foi sub-dividido em duas categorias de acordo com o tamanho pupilar medido pelo aberrómetro durante o exame de medição da frente de onda. Para avaliar cada um dos olhos mediu-se a refracção subjectiva e a frente de onda. O primeiro teste foi efectuado pelos oftalmologistas que regularmente seguiam os participantes. O outro teste foi realizado por um técnico de

ortóptica com formação para operar o aberrómetro de frente de onda Zywave™ da Bausch&Lomb. Os resultados deste exame foram usados como dados para o programa de simulação da acuidade visual.

2.3 Resultados

Após identificar as aberrações significativas em cada um dos grupos e subgrupos, usou-se o algoritmo para simular imagens teste em diferentes condições: visão fotópica (diurna) e visão escotópica (nocturna).

As imagens simuladas permitiram verificar que olhos operados apresentam dificuldade em distinguir contraste, principalmente em condições de visão nocturna quando as pupilas estão dilatadas (Figura 6). Usando a simulação, verificou-se também que mesmo a acuidade visual dos olhos não operados também é afectada pelo tamanho pupilar, comprovando assim os resultados que outros autores já tinham mencionado acerca da dependência entre aberrações ópticas e o tamanho pupilar³⁹.

Tentou-se também correlacionar o aumento de certos tipos de aberrações nos olhos operados com os procedimentos cirúrgicos efectuados. Os resultados encontrados quer para olhos operados com lentes intraoculares, quer com cirurgia refractiva são consistentes com dados publicados na literatura⁴⁰⁻⁴².

Estudou-se também a influência de cada uma das aberrações na acuidade visual, pois a PSF calculada pelo aberrómetro Zywave™ só tem em conta os termos de ordem superior. Até muito recentemente, quando se avaliava a influência das aberrações de ordem superior na acuidade visual, existia uma tendência para se olhar em maior detalhe para os polinómios ou coeficientes de Zernike de ordem superior. Os termos de ordem inferior normalmente eram ignorados, pois podiam ser corrigidos com óculos ou lentes de contacto.

Usando o algoritmo desenvolvido, foi possível comparar a diferença entre imagens teste simuladas usando todos os termos e apenas os termos de ordem superior. Numa primeira análise, seria de esperar que as imagens simuladas usando apenas termos de ordem superior apresentassem melhor qualidade do que as simuladas com todos os termos, uma vez que os termos de ordem inferior são os que contribuem mais para a aberração total do olho. No entanto, verificou-se que não é isto que acontece,

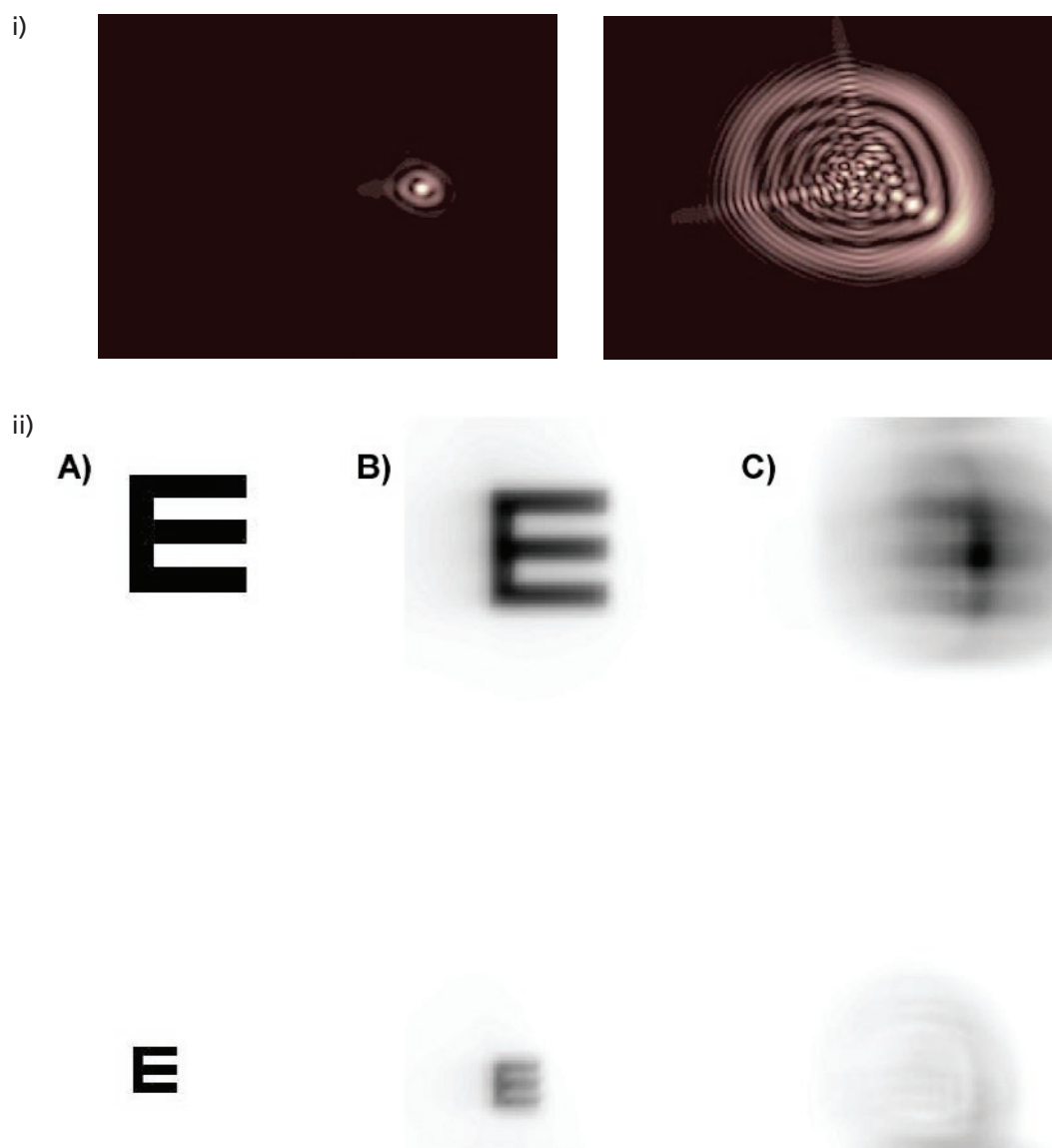


Figura 7: i) Simulação da função de espalhamento de um ponto (PSF – Point Spread Function) usando todos os termos das aberrações (imagem esquerda) e usando apenas os termos de ordem superior (imagem direita). Imagens simuladas para um olho operado com LASIK. ii) a) Imagem original: quadro de Snellen – uma das métricas mais comuns para medir a acuidade visual; b) Imagem simulada usando todos os termos das aberrações; c) Imagem simulada usando apenas os termos de ordem superior.

particularmente no caso dos olhos operados com cirurgia refractiva da córnea. No caso dos olhos LASIK verificou-se que a PSF aproxima-se mais de uma forma pontual e que a imagem simulada para o Quadro de Snellen apresenta melhor contraste (Figura 7i e 7ii).

A explicação para as diferenças encontradas entre as diferentes imagens simuladas está relacionada com o modo de operar do aberrómetro, mais especificamente com o processo de ajuste aos polinómios de Zernike, de modo a reconstruir a frente de onda. Durante o ajuste, os algoritmos do aberrómetro aumentam o peso de alguns coeficientes de ordem inferior, de modo a compensar a elevada magnitude dos coeficientes de ordem superior que normalmente se encontra significativamente aumentado

em olhos operados com LASIK. Desta forma, a área central da frente de onda é mantida plana, conduzindo a uma PSF mais pontual e a uma melhor acuidade visual. Quando se representam imagens simuladas usando apenas termos de ordem superior, cancela-se o balanço entre coeficientes, logo o efeito da aberração esférica é aumentado, causando uma diminuição da acuidade visual.

Destaca-se ainda que mesmo as imagens simuladas usando todos os termos, apresentam uma acuidade visual reduzindo quando comparada com a acuidade visual dos participantes. Este resultado demonstra que o cérebro humano está preparado para lidar com a existência de aberrações ópticas, quer naturais, quer induzidas. Desta forma, é importante continuar a estudar em mais detalhe

o processamento visual, de modo a poder avaliar os efeitos reais das aberrações na acuidade visual.

Conclusões

Se a investigação beneficia do ensino²³, através da interactividade que este possibilita e da riqueza dos recursos humanos que gera, também o ensino devidamente conduzido beneficia da exposição à investigação. No enquadramento de um ciclo de estudos superiores de 5 anos (Mestrado Integrado) é possível formar estudantes capazes de realizarem desde logo projectos complexos com resultados de grande impacto na prática clínica. Os dois exemplos apresentados na secção anterior referem-se: 1) à avaliação da lesão aterosclerótica, recorrendo a US-3D e usando métodos computacionais para a reconstrução de volume, segmentação e caracterização da eco-estrutura da placa de ateroma, para fornecer um contributo importante na forma como a mesma é visualizada, diagnosticada e tratada; 2) à reconstrução computacional das aberrações na acuidade visual, a partir de medidas oftalmológicas, permitindo autonomizar o diagnóstico médico da descrição do doente e servir de apoio à decisão cirúrgica.

Estes trabalhos, realizados por jovens estudantes de engenharia biomédica na escola de engenharia de uma universidade portuguesa, encontram-se nas tendências internacionais da actual transição acelerada do homem biológico para o homem biónico. O desenvolvimento de um coração artificial⁴³ que substitua um coração humano é um dos múltiplos projectos que decididamente vai definir a nova era do homem biónico. A versão 1 do AbioCor foi implantada em 14 pacientes e o record de sobrevivência foi de 151 dias após transplante⁴³⁻⁴⁴. Outro exemplo do futuro (já provavelmente próximo) é uma interface entre o cérebro e o computador (Brain-Computer Interface, BCI) feita com nano-electrodos pouco invasivos. Estes podem levar sinais eléctricos do exterior ao cérebro e restaurar a visão. E podem, inversamente, levar sinais do cérebro aos músculos, pondo doentes paralisados a comunicar e actuar no e com o exterior e tornar quase naturais braços e pernas artificiais. O ser humano está a mudar e não através apenas da evolução natural.

Referências Bibliográficas

- Enderle J, Blanchard SM, Bronzino J. Introduction to biomedical engineering. London:Academic Press;2000.
- Margolis DJ, Bammer R, Chow LC. Parallel imaging of the abdomen. *Top Magn Resonance Imag.* 2004 Jun;15(3):197-206.
- van Ooijen PM, Dorgelo J, Zijlstra F, Oudkerk M. Detection, visualization and evaluation of anomalous coronary anatomy on 16-slice multidetector-row CT. *Eur Radiol.* 2004 Dec;14(12):2163-71.
- Timor-Tritsch IE, Platt LD. Three-dimensional ultrasound experience in obstetrics. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2002 Dec;14(6):569-75.
- Zimmer LA, Snyderman C, Fukui MB, Blodgett T, McCook B, Townsend DW, et al. The use of combined PET/CT for localizing recurrent head and neck cancer: the Pittsburgh experience. *Ear Nose Throat J.* 2005 Feb;84(2):104, 106, 108-10.
- Louie A, Izatt J, Ferrara K. Biomedical imaging graduate curricula and courses: report from the 2005 Whitaker Biomedical Engineering Educational Summit. *Annals of Biomed Eng.* 2006 Feb;34(2):239-47.
- Alanazi A, Nojiri C, Kido T, Noguchi T, Ohgoe Y, Matsuda T, et al. Engineering analysis of diamond-like carbon coated polymeric materials for biomedical applications. *Artif Organs.* 2000 Aug;24(8):624-7.
- Blodgett KB. Films built by depositing successive monomolecular layers on a solid surface. *J Am Chem Soc.* 1935;57(1):1007-22.
- Mrksich M, Whitesides GM. Using self-assembled monolayers to understand the interactions of man-made surfaces with proteins and cells. *Annu Rev Biophys Biomol Struct.* 1996;25:55-78.
- Decher G. Fuzzy nanoassemblies: toward layered polymeric multicomposites. *Science.* 1997;277(5330):1232-7.
- Senaratne W, Andruzzi L, Ober CK. Self-assembled monolayers and polymer brushes in biotechnology: current applications and future perspectives. *Biomacromolecules.* 2005 Sep-Oct;6(5):2427-48.
- Decher G, Hong JD, Schmitt J. Buildup of ultrathin multilayer films by a self-assembly process: III. Consecutively alternating adsorption of anionic and cationic polyelectrolytes on charged surfaces. *Thin Solid Films.* 1992;210(1-2):831-5.
- Tang Z, Wang Y, Podsiadlo P, Kotov NA. Biomedical applications of layer-by-layer assembly: from biomimetics to tissue engineering. *Adv Mater.* 2006 Dec 18;18(24):3203-24.
- Lutchen KR, Barbari EJ. White paper: rationale, goals, and approach for education of biosystems and biosignals in undergraduate biomedical engineering degree programs. *Ann Biomed Eng.* 2006 Feb;34(2):248-52.
- Reyes DR, Iossifidis D, Auroux PA, Manz A. Micro total analysis systems. 1. Introduction, theory, and technology. *Anal Chem.* 2002 Jun 15;74(12):2623-36.
- Zaytseva NV, Goral VN, Montagna RA, Baeumner AJ. Development of a microfluidic biosensor module for pathogen detection. *Lab Chip.* 2005 Aug;5(8):805-11.
- Samel B, Nock V, Russom A, Griss P, Stemme G. A disposable lab-on-a-chip platform with embedded actuators for active nanoliter liquid handling. *Biomed Microdevices.* 2007 Feb;9(1):61-7.
- Auroux PA, Iossifidis D, Reyes DR, Manz A. Micro total analysis systems. 2. Analytical standard operations and applications. *Anal Chem.* 2002 Jun 15;74(12):2637-52.
- Morfini G, Pigino G, Chilcote T, Serulle Y, Sugimori M, Llinas R, et al. Fast axonal transport alterations in Parkinson's disease. *J Neurochemistry.* 2006;96(Suppl. 1):144.
- Olefsky JM. The US's changing competitiveness in the biomedical sciences. *J Clin Invest.* 2007 Jan;117(1):270-6.

21. GradSchools.com. Chester-PA: Educational Directories Unlimited; 1996 [updated 2008; cited 2008 Feb 12]. Available from: www.gradschools.com/listings/europe/biomed_health.html.
22. Enquadramento juridicamente em Portugal pela legislação de 2005: Decreto-Lei nº 42/2005, de 22 de Fevereiro de 2005 – Princípios reguladores de instrumentos para a criação do espaço europeu de ensino superior; Despacho nº 10.543/2005 (2ª série) de 11 de Maio de 2005 – Normas técnicas para a apresentação das estruturas curriculares e dos planos de estudos dos cursos superiores e sua publicação.
23. Silva FL, Peña T, editors. Biomedical engineering research at IST. Lisbon:GIRE-IST;2006.
24. Cunha L. Epidemiologia da doença vascular cerebral. In: Sousa JC, editor. Aterotrombose. Lisboa: SANOFI; 2000.
25. Endarterectomy for asymptomatic carotid stenosis: Executive committee for the asymptomatic carotid atherosclerosis study. *JAMA*. 1995 May 10;273(18):1421–8.
26. Beneficial effect of carotid endarterectomy in symptomatic patients with high grade carotid stenosis: North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial Collaborators. *N Engl J Med*. 1991 Aug 15;325(7):445–53.
27. Pedro LM. Uma janela para a aterosclerose: a ultrassonografia de alta definição no estudo da parede arterial [dissertation]. Lisboa: Instituto Superior Técnico; 2003. Portuguese.
28. Fenster A, Downey DB, Cardinal HN. Three-dimensional ultrasound imaging. *Phys Med Biol*. 2001 May;46(5):R67–99.
29. Sanches JM, Dias JB, Marques JS. Minimum total variation in 3D ultrasound reconstruction. In: IEEE International Conference on Image Processing, ICIP 2005, Geneva, Switzerland, Sep 11–14, 2005.
30. Seabra JS, Sanches JM, Pedro LM, Fernandes JF. Carotid plaque 3D compound imaging and echo-morphology analysis: a bayesian approach. In: 29th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, EMBS 2007, Lyon, France, Aug 23–26, 2007 [cited 2008 Feb 12]. Available from: http://users.isr.ist.utl.pt/~jmrs/downloads/EMBC07_0178_FI.pdf
31. Xu C, Prince JL. Snakes, shapes, and gradient vector flow. *IEEE Transactions on Image Processing*. 1998 Mar; 7(3):359–69.
32. Amano S, Amano Y, Yamagami S, Miyai T, Miyata K, Samejima T, et al. Age-related changes in corneal and ocular high-order wavefront aberrations. *Am J Ophthalmol*. 2004 Jun;137(6):988–92.
33. Artal P, Guirao A, Berrio E, Williams DR. Compensation of corneal aberrations by the internal optics in the human eye. *J Vis*. 2001;1(1):1–8.
34. Prieto PM, Vargas-Martín F, Goelz S, Artal P. Analysis of the performance of the Hartmann-Schack sensor in the human eye. *J Opt Soc Am A Opt Imag Sci Vis*. 2000 Aug;17(8):1388–98.
35. Campbell CE. A new method for describing the aberrations of the eye using Zernike polynomials. *Optom Vis Sci*. 2003 Jan;80(1):79–83.
36. Charman WN. Wavefront technology: past, present and future. *Cont Lens Anterior Eye*. 2005 Jun;28(2):75–92.
37. Thibos LN, Hong X, Bradley A, Applegate RA. Accuracy and precision of objective refraction from wavefront aberrations. *J Vis*. 2004 Apr 23;4(4):329–51.
38. Applegate RA, Ballentine C, Gross H, Sarver EJ, Sarver CA. Visual acuity as a function of Zernike mode and level of root mean square error. *Optom Vis Sci*. 2003 Feb; 80(2):97–105.
39. Pop M, Payette Y. Risk factors for night vision complaints after LASIK for myopia. *Ophthalmology*. 2004 Jan;111(1): 3–10.
40. Marcos S. Aberrations and visual performance following standard laser vision correction. *J Refract Surg*. 2001 Sep–Oct;17(5):S596–601.
41. Taketani F, Matsuura T, Yukawa E, Hara Y. Influence of intraocular lens tilt and decentration on wavefront aberrations. *J Cataract Refract Surg*. 2004 Oct;30(10):2158–62.
42. Rosales P, Marcos S. Phakometry and lens tilt and decentration using a custom-developed Purkinje imaging apparatus: validation and measurements. *J Opt Soc Am A Opt Imag Sci Vis*. 2006 Mar;23(3):509–20.
43. Marshall E. A space age vision advances in the clinic. *Science*. 2002 Feb 8;295(5557):1000–1.
44. Dowling RD, Gray LA, Etoch SW, Laks H, Marelli D, Samuels L, et al. Initial experience with the AbioCor implantable replacement heart system. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2004 Jan;127(1):131–41.