

Filtragem de Sinais Raman de Tecidos Biológicos para Redução de Ruído e Background

Marcelo Amaral da Silva, Osamu Saotome*, Renato A. Zângaro e Marcos Tadeu T. Pacheco

IP&D/UNIVAP - Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos, SP, Brazil

*Departamento de Eletrônica Aplicada, Divisão de Engenharia Eletrônica - ITA - São José dos Campos, SP

Resumo- A redução do tempo de aquisição do sinal e processamento de espectros Raman obtidos à partir de tecidos biológicos é um passo importante para se tornar os sistemas laboratoriais uma ferramenta clínica. Neste trabalho é apresentado a extração de fluorescência e ruído de um espectro Raman de uma coronária humana.

Abstract- The time reduction in acquisition and processing of Raman spectrum from biological tissue is a very important step to make the laboratory systems become a clinical tool. In this work is presented the background fluorescence and noise extraction from human coronary Raman spectrum.

Introdução

Nos últimos anos a espectroscopia Raman vem sendo cada vez mais utilizada no diagnóstico de malformações em tecidos humanos. Estas alterações normalmente estão relacionadas com mudanças bioquímicas nos tecidos⁽¹⁾. Muitas destas mudanças podem ser detectadas antes de se tornarem visíveis, e a remoção do tecido danificado é altamente recomendada. Em alguns casos o diagnóstico pode ser feito *in vitro*, quando existe a possibilidade de remover parte do tecido visivelmente atingido para ser estudado. Em outros casos, todavia, os exames *in vivo* são necessários, e nestes casos o tempo de aquisição e diagnóstico deve ser otimizado. Trabalhos importantes têm sido publicados^(2,3) mostrando resultados de diagnósticos *in vitro* em tecidos de coronárias humanas com tempos de aquisição cada vez menores. No caso de diagnóstico *in vivo* o tempo de aquisição e processamento deve ser reduzido para menos de 1 segundo, considerando-se as movimentações do sangue, do coração e do catéter introduzido na artéria do paciente. Nestes trabalhos, o tratamento do sinal tem-se limitado à remoção do background por software, que consiste basicamente em subtrair o efeito de fluorescência adicionada ao sinal Raman, através de um processo de levantamento de curvas por polinômios. O presente trabalho mostra que é possível reproduzir com razoável fidelidade os sinais obtidos em tempos longos de aquisição através da filtragem dos sinais obtidos em tempo muito mais curto.

Metodologia

O sistema utilizado atualmente no Centro de Pesquisa, Desenvolvimento e Extensão da UNIVAP, consiste em um laser de Titânio-Safira bombeado por

um laser de Argônio. O laser de Titânio-Safira pode produzir até 500 mW de potência no pico da região

de sintonia, que pode varrer toda a região do infravermelho próximo, entre 600nm e 900nm. O feixe laser, com aproximadamente 1 mm de diâmetro incide sobre a amostra em um curto intervalo de tempo, com uma densidade de potência reduzida, para se evitar efeitos térmicos ou indução de alteração dos componentes bioquímicos. O sinal proveniente da amostra, é concentrado na entrada de um espectrômetro, equipado com um Charge Coupled Device (CCD) bidimensional tipo *deep depletion*. O sinal gerado no CCD é conduzido a um micro computador através de um controlador que gerencia as condições de operacionalidade do CCD.

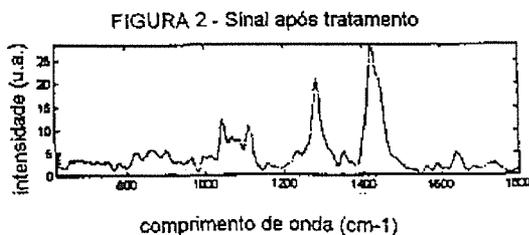
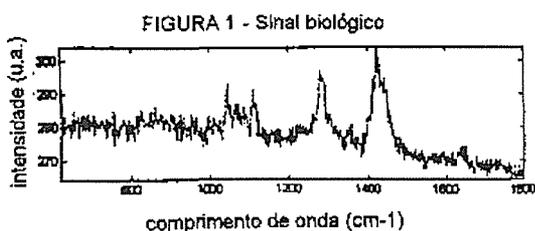
Resultados

Os sinais obtidos consistem em uma seqüência de pontos que é tratada por filtros através do software MATLAB. Os resultados são fornecidos em termos da frequência de amostragem para fazer uma referência ao sinal a ser tratado em tempo real. Devido à necessidade de obtermos resultados de filtragem com deslocamento de fase nulo pois a posição dos picos deve manter-se a mesma depois da filtragem, estas são realizadas duas vezes na seqüência, primeiramente no sentido direto, ou seja, do primeiro ponto para o último, e posteriormente no sentido contrário, do último ponto para o primeiro. Este processo foi realizado por uma função do SIGNAL TOOLBOX chamada *filtfilt* que realiza estas duas filtrações e ainda oferece a vantagem da remoção dos transitórios inicial (devido à filtragem no sentido direto) e final (devido à filtragem no sentido contrário). A retirada do sinal espúrio devido a fluorescência do tecido (background), é efetuada mediante uma análise dos componentes espectrais do sinal gerado no CCD. Utilizou-se neste trabalho um procedimento que consiste em uma filtragem passa-alta para retirar parte do nível DC da curva original e algumas componentes em frequências muito baixas. As correções finais na curva espectral são feitas em

função dos picos que apresentam uma melhor definição em termos de relação sinal/ruído.

Foram realizadas diversas aquisições com diferentes tempos de acumulação. Na figura 1 o espectro apresentado foi obtido com um tempo de acumulação de 1 segundo. A filtragem foi efetuada com filtro Butterworth utilizando uma frequência de corte de 0,1 da frequência de amostragem e para a remoção do background, um filtro passa-alta Butterworth de ordem 2 e frequência de corte 0,001 da frequência de amostragem (FIGURA2). A ordem do filtro foi mantida baixa, 2, para que não houvesse um aumento exagerado no tempo de processamento.

Para a escolha do filtro, foi feito um levantamento das características de frequência dos sinais e uma comparação entre os diversos tipos de filtros extraíndo-se as seguintes características dos espectros Raman: (a) frequência do pico; (b) valor máximo do pico; (c) largura de meia potência (FWHM); (d) integral entre as frequências correspondentes à meia potência.



Este tipo de filtragem foi efetuado também em uma placa de desenvolvimento DSP-AD20020 que dispendeu o tempo de 6,5ms para a filtragem Butterworth de ordem dois, nos dois sentidos, com 1024 pontos. Isto é extremamente mais rápido que o sistema comercial atualmente em uso e que utiliza um tempo da ordem de 200ms para realizar o mesmo tipo de processamento.

Conclusão

Os resultados obtidos até o momento demonstram que, o método de tratamento dos sinais obtidos no CCD, via software, oferece uma alternativa altamente vantajosa quando se trabalha no sentido de redução do tempo de análise e diagnóstico espectrais. Além disso, o tratamento do sinal de uma maneira independente, permite a escolha do número e da região onde os *pixels* do CCD são mais importantes, podendo-se assim reduzir o tempo de diagnóstico em função das características específicas de cada patologia, evitando-se a análise em todo o conjunto de dados durante cada aquisição. Possibilitando assim uma redução do tempo integral, aquisição + processamento, de maneira que este sistema possa ser utilizado clinicamente.

Referências

1. Y. Ozaki, Medical Application of Raman Spectroscopy, Applied Spectroscopy Reviews, 24(3&4), pp259-312, 1988.
2. R. Manoharan, J. J. Baraga, M. S. Feld e R. P. Rava, Quantitative histochemical analysis of human artery using Raman spectroscopy, J. Photochem. Photobiol. B: Biol., pp 211-233, 1992.
3. J. J. Baraga, M. S. Feld e R. P. Rava, In situ optical histochemistry of human artery using near infrared Fourier transform Raman spectroscopy, Proc. Natl. Acad. Sci USA, Vol. 89, pp 3473-3477, April 1992.