

Universidade Federal de Minas Gerais



Escola de Engenharia



Programa de Pós Graduação em Engenharia Elétrica



CONSTRUÇÃO DE UMA PLATAFORMA CONFIGURÁVEL PARA AQUISIÇÃO DE IMAGENS COM APLICAÇÕES PUPILOMÉTRICAS

John Kennedy Schettino de Souza

Orientador: Carlos Julio Tierra Criollo

Co-Orientador: Jerome Baron

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Engenharia Elétrica.

Belo Horizonte

2012

John Kennedy Schettino de Souza

**CONSTRUÇÃO DE UMA PLATAFORMA CONFIGURÁVEL PARA
AQUISIÇÃO DE IMAGENS COM APLICAÇÕES PUPILOMÉTRICAS**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica da
Universidade Federal de Minas Gerais.

Carlos Julio Tierra Criollo, Dr.

Jerome Baron, Dr.

Danilo Barbosa Melges, Dr.

Dora Selma Fix Ventura, Ph.D.

Guilherme Augusto Silva Pereira, Dr.

Sabine Pompéia, Dra.

Agradecimentos

Aos amigos do CEFET Marcos e Denny pela colaboração técnica e pela convivência no café, momentos de alegrias e lamentações.

Ao Sady pelo encaminhamento de minha entrada no doutorado.

Aos colegas do NEPEB pela constante colaboração.

A todos os colegas que contribuíram na realização deste trabalho em especial o Pedro e o Giuliano pela colaboração técnica.

Ao meu orientador, prof. Carlos Julio, não só pelas orientações, mas pela confiança depositada e pelo reconhecimento do trabalho realizado.

Ao meu co-orientador, prof. Jerome, pelas orientações e contribuições.

À minha família, especialmente minha esposa Auzênia, pelo apoio incondicional.

Ao CEFET-MG pela liberação em tempo integral para a realização do meu doutorado.

Às agências de fomento CAPES, CNPq e FAPEMIG pelo apoio financeiro.

RESUMO

Por meio da pupilometria, que se caracteriza por um exame não invasivo, é possível realizar medições precisas da dinâmica da pupila de onde são extraídos indicadores objetivos e de natureza fisiológica. Tais indicadores, trabalhando de forma integrada ou individual, permitem avaliar o comportamento do sistema nervoso e identificar possíveis anormalidades. Um dos grandes problemas das pesquisas que se apoiam em informações pupilométricas está na especificação da ferramenta. Dessa forma, o desafio neste trabalho foi desenvolver uma ferramenta reconfigurável (*hardware/software*) e de baixo custo que permitisse o estudo da pupila em diversas abordagens, demonstrando sua aplicabilidade por meio de diversos experimentos. Como resultado deste trabalho foi construída uma plataforma de aquisição de imagens, cuja avaliação permitiu identificar uma resolução temporal de 1/120 Hz e espacial de 0,03 mm, situando nossa plataforma dentro da gama (120Hz / 0,01 a 0,1 mm) dos diversos produtos comerciais e protótipos. Como diferenciais desta plataforma encontram-se a capacidade de sincronização e de identificação e recuperação de falhas de captura. Utilizando esta plataforma, foram implementadas duas configurações distintas (*hardware/software*) e aplicadas em estudos piloto do reflexo pupilar à luz na coruja buraqueira (*Athene cunicularia*) e na avaliação da privação de sono em humanos. Os resultados indicaram que a velocidade de constrição pupilar da coruja chega ser 5 vezes mais rápida do que em primatas. Já na avaliação da sonolência, o estudo mostrou a possibilidade de identificação de sujeitos privados do sono utilizando a integração de três indicadores: tempo de reação, oscilação do diâmetro da pupila e piscamento de longa duração.

Palavras-chave: Pupila, pupilometria, pupilômetro, reflexo pupilar, sono, aquisição de imagens.

ABSTRACT

Accurate measurements of the pupils' dynamics can be performed through pupillometry, a non-invasive test from which objective indexes of physiological nature can be extracted. Such indexes, working individually or in a combined form, allow the assessment of the nervous system's behavior and identify occasional abnormalities. One of the great problems of researches based on pupillometric information lies on the tool's specification. Therefore, the challenge in this work was to develop a low cost, reconfigurable tool (hardware/software) that allows the study of pupil from various approaches, demonstrating its applicability through distinct experiments. As a result of this work, an image-acquisition platform was build, whose evaluation identified a temporal resolution of 1/120 Hz and a spatial resolution of 0.03 mm, placing our platform inside the range (120Hz / 0.01 to 0.1 mm) of the various commercial products and prototypes. Among the advantages of that platform are ease of synchronization, as well as of identification and recovery of capture failures. With that platform, two distinct configurations were set (hardware/software) and applied in pilot studies of the light's pupillary reflex on the burrowing owl (*Athene cunicularia*) and in the assessment of sleep deprivation in humans. The results showed that the owl's pupillary constriction is 5 times faster than that of primates. As for the assessment of sleepiness, the study showed the possibility of identification of sleep-deprived subjects by using the combination of 3 indexes: reaction time, oscillation of the pupil's diameter and long blinking time.

Keywords: Pupil, pupillometry, pupillometer, pupillary reflex, sleepiness, image acquisition.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - O Olho.	27
Figura 2 – Câmera.	27
Figura 3 - Miose – Comando pelo sistema nervoso parassimpático.	28
Figura 4 - Midríase – Comandada pelo sistema nervoso simpático.	28
Figura 5 - Reflexo Pupilar.	30
Figura 6 - Módulos e interconexões da plataforma de aquisição de imagens.	34
Figura 7 - Hardware responsável pelo controle, recepção e armazenamento de dados.	34
Figura 8 - Descrição dos pinos da câmera (Point Grey Research, 2009b).	35
Figura 9 - Diagrama elétrico dos canais de I/O (Point Grey Research, 2009b).	36
Figura 10 - Imagem capturada com timestamp e I/Os inseridos.	37
Figura 11 - Espectro de irradiação dos LEDs IR utilizados para iluminação da cena (Semiconductors, 2010).	37
Figura 12- Curva de resposta do sensor da câmera (Point Grey Research, 2009b).	38
Figura 13 - Protótipo portátil para análise de pupila.	39
Figura 14 - Lente de 6mm usada na relação pixel/mm.	39
Figura 15 - (A) Placa de circuito impresso da câmera Firefly MV com suporte de sustentação CS.	40
Figura 16 - Circuito de iluminação (L1 - L4) e de estimulação (L5).	41
Figura 17 - Geometria formada pela fonte de iluminação e o olho.	41
Figura 18 - Componentes do módulo de aquisição de imagens do protótipo fixo.	42
Figura 19 - Módulo de iluminação do protótipo fixo.	42
Figura 20 - (A) Ambiente para execução de coletas pupilométricas com isolamento da luz ambiente.	43
Figura 21 - Sinais de trigger.	44
Figura 22 - Circuito para compatibilização do sinal de trigger.	44
Figura 23 - Diagrama de blocos.	46
Figura 24 - Arquitetura de software do sistema.	47
Figura 25 - Correção da distorção radial da lente.	48
Figura 26 - Máquina de estado finito (MEF) representativa do modo de gravação de vídeo disparado por evento de trigger.	50
Figura 27 - Máquina de estado finito (MEF) para o modo de gravação contínuo de longa duração.	51

Figura 28 - Fluxograma do algoritmo de segmentação da pupila.	55
Figura 29 – O ponto em destaque não coincidente com os pontos do objeto ilustra um caso em que o centróide do objeto não pertence ao próprio objeto.....	56
Figura 30 - Fluxograma do algoritmo de estimação da pupila.....	58
Figura 31 - Busca direcionada de vetor candidato para dimensionamento da pupila.	60
Figura 32 – Oclusões no olho da coruja buraqueira.	61
Figura 33 – (A) Divisão do círculo em 12 pontos equidistantes que compõem os vetores candidatos.	62
Figura 34 - Exemplos de estimação para olho humano.....	63
Figura 35 - Exemplos de estimação para olho de coruja buraqueira.....	64
Figura 36 - Interface para geração de filme sintético para simulação de um olho constituído apenas de íris e pupila.....	66
Figura 37 - Teste estático - Avaliação da detecção da pupila.	66
Figura 38 - Teste estático - Avaliação da variação do diâmetro da pupila.....	67
Figura 39 - Teste dinâmico - Avaliação da variação do diâmetro da pupila.	67
Figura 40 - Teste dinâmico - Avaliação da variação do diâmetro de pupila.	68
Figura 41 - Zoom de 2X na região de transição da pupila para a íris.....	68
Figura 42 - Ensaio com manequim.....	69
Figura 43 - Resumo da aquisição de dados no manequim.	70
Figura 44 - Estimação do diâmetro da pupila no manequim com resolução espacial de 320 X 240.	70
Figura 45 Estimação do diâmetro da pupila no manequim com resolução espacial de 640 X 480.	71
Figura 46 - Estimação do diâmetro da pupila em voluntário, com resolução espacial de 320 X 240.	72
Figura 47- Detecção e Estimação da duração de um piscamento em ensaio com voluntário ..	73
Figura 48 – Comparação entre medidas manual e automática de diâmetro de pupila.	73
Figura 49 – Comparação da área do círculo representativo da pupila medida pelo algoritmo do sistema com a da elipse medida manualmente com o software ImageJ.....	74
Figura 50 – Métricas derivadas do RPL em coruja buraqueira.	81
Figura 51 – Diâmetro pupilar em função do nível de luminância.	83
Figura 52 – Valores de latência estimados em todos os trials e corujas.....	84
Figura 53 - Constrrição e duração do tempo dilatação conforme níveis de luminância.....	85

Figura 54 - Velocidade de constrição e dilatação pupilar em corujas submetidas a diferentes níveis de luminância.	86
Figura 55 - Classificação das técnicas de avaliação sonolência.	93
Figura 56 - Sistema integrado de estimulação visual e de aquisição de imagens.	98
Figura 57 - Iluminação e estimulação.	99
Figura 58 – (A) Iluminação da cena e respectivo reflexo corneal. (B) Iluminação da cena e início da estimulação visual.	99
Figura 59 - Sinais relativos a um trecho de captura.	101
Figura 60 – Dinâmica da pupila.	102
Figura 61 – Exemplo típico de um lapso (LOA).	104
Figura 62 - Curva do diâmetro da pupila após processo de filtragem de falhas de captura e de piscamento de sujeito na condição “sem privação do sono”.	105
Figura 63 – <i>Power Spectrum</i> típico de sujeito na condição “sem privação do sono”.	106
Figura 64 - Curva do diâmetro da pupila após processo de filtragem de falhas de captura e de piscamento de sujeito na condição “com privação do sono”.	106
Figura 65 – <i>Power Spectrum</i> típico de sujeito na condição “com privação do sono”.	106
Figura 66 - Curvas ROC dos indicadores relativos ao 1º e 10º ensaios.	109
Figura 67 - Curvas ROC dos indicadores relativos ao 1º e 10º ensaios para abordagem LPePld.	111
Figura 68 – Curvas de segmentação individuais.	111
Figura 69 – Segmentação composta.	112
Figura 70 - Curvas ROC dos indicadores relativos ao 1º e 7º ensaios para abordagem LPePld.	113
Figura 71 - Curvas de segmentação individuais ao longo do 1º e 7º ensaios.	114
Figura 72 - Segmentação composta ao longo do 1º e 7º ensaios.	114
Figura A1- Reflexo das fontes de iluminação.	135
Figura A2- Sistema de aquisição de imagens.	136
Figura A3 - Direcionamento do olhar para a câmera sobre ponto de vista do sujeito:	141
Figura A4 - Formação da imagem (A) sem distorção.	141
Figura A5 - Imagem de papel milimetrado posicionado a 30 mm da lente.	142
Figura B1 - Precisão temporal do sinal de <i>stroke</i> da câmara.	145
Figura B2 - Desempenho do sistema na aquisição de vídeo	147
Figura B3 - Desempenho de temporização do sistema.	148

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Fontes de estimulação da Pupila	31
Tabela 2 - Componentes do módulo de iluminação.	43
Tabela 3 - Componentes do circuito de correção de largura de pulso.....	45
Tabela 4 - Indicadores de lapsos, potência de oscilação de pupila e eventos de piscamento.	108
Tabela 5 - VPs individuais dos indicadores e sua composição, obtidos no 1º e 10º ensaios para abordagem LPeP.....	109
Tabela 6 – Indicadores de lapsos, potência de oscilação de pupila e eventos de piscamento para abordagem LPePId.....	110
Tabela 7 - VPs individuais dos indicadores e sua composição, obtidos no 1º e 10º ensaios para abordagem LPePId.....	111
Tabela 8 - Indicadores de lapsos, potência de oscilação de pupila e eventos de piscamento no 1º e 7º ensaios para abordagem LPePId.....	113
Tabela 9 - VPs individuais dos indicadores e sua composição, obtidos no 1º e 7º ensaios para abordagem LPePId	113
Tabela B1 - Configurações de computadores utilizados para avaliar o desempenho do sistema.	146
Tabela C1 - Parâmetros dos dispositivos de coleta pupilométrica.	149

LISTA DE SIGLAS

ANOVA	-	<i>Analysis of variance</i>
ART	-	<i>Auditory reaction time</i>
ATS	-	<i>Accumulated time with sleepiness scale</i>
AVI	-	<i>Audio Video Interleave</i>
BNSQ	-	<i>Basic Nordic Sleep Questionnaire</i>
CETEA	-	Comitê de Ética em Experimentação Animal
CPS	-	Com privação de sono
CPU	-	<i>Central Processing Unit</i>
CRT	-	<i>Catodic Rays Tube</i>
DDC	-	Detecção Direcionada de Círculo
DSST	-	<i>Digit-symbol substitution test</i>
EDS	-	<i>Excessive daytime sleepiness</i>
EEG	-	<i>Eletroencefalografia</i>
ESS	-	<i>Epworth sleepiness scale</i>
EW	-	Edinger-Westphal
FPS	-	<i>Frames per second</i>
GPIO	-	<i>General Purpose Input/Output</i>
IIDC	-	<i>Instrumentation and Industrial Control Working Group</i>
IMAQdx	-	<i>Image Acquisition Software</i>
I/O	-	<i>Input/output</i>
IR	-	<i>Infra vermelho</i>
KSS	-	<i>Karolinska sleepiness scale</i>
LabVIEW	-	<i>Laboratory Virtual Instrument Engineering Workbench</i>
LED	-	<i>Light-emitting diode</i>
LPeP	-	Lapsos, potência e os eventos de piscamento
LPePld	-	Lapsos, potência e eventos piscamento de longa duração
MEF	-	Máquina de Estado Finito
MSLT	-	<i>Multiple sleep latency test</i>
MSQ	-	<i>Mini sleep questionnaire</i>
MVT	-	<i>Multiple vigilance test</i>
MWT	-	<i>Maintenance of wakefulness test</i>
NI	-	<i>National Instruments</i>
NEPEB	-	Núcleo de estudos e pesquisa em engenharia biomédica

NREM	-	<i>Non-rapid eye movement</i>
PCMCIA	-	<i>Personal Computer Memory Card International Association</i>
POMS	-	<i>Profile of Mood States</i>
PC	-	<i>Personal Computer</i>
OS	-	<i>Power spectrum</i>
PSQI	-	<i>Sleep Quality Index</i>
PST	-	<i>Pupillographic sleepiness test</i>
PUI	-	<i>Pupil unrest index</i>
PVT	-	<i>Psychomotor vigilance test</i>
RAM	-	<i>Random Access Memory</i>
RCD	-	<i>Randomize Circle Detect</i>
RDSS	-	<i>Rotterdam daytime sleepiness scale</i>
ROC	-	<i>Receiver Operating Characteristic</i>
ROI	-	<i>Region of Interest</i>
RPL	-	<i>Reflexo pupilar à luz</i>
RTSW	-	<i>Repeated test of sustained wakefulness</i>
SALT	-	<i>Simulated assembly line task</i>
SAOS	-	<i>Síndrome da apnéia obstrutiva do sono</i>
SNA	-	<i>Sistema nervoso autônomo</i>
SO	-	<i>Sistema operacional</i>
SPS	-	<i>Sem privação de sono</i>
SSS	-	<i>Stanford sleepiness scale</i>
SWAI	-	<i>Sleep_wake activity inventory</i>
TDMS	-	<i>Technical Data Management Streaming</i>
TR	-	<i>Tempo de Reação</i>
TTL	-	<i>Transistor-Transistor Logic</i>
USB	-	<i>Univesal serial bus</i>
VAS	-	<i>Visual analog scale</i>
VRT	-	<i>Visual reaction time</i>
WAT	-	<i>Wilkinson addition test</i>
WWMT	-	<i>Williams word memory test</i>

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO	23
1.1. Objetivos.....	25
1.2. Estrutura do Trabalho	26
CAPÍTULO 2 - BASES FISIOLÓGICAS E A PUPILOMETRIA	27
2.1. A Pupila.....	27
2.1.1. Motricidade da pupila.....	27
2.1.2. Reflexo Pupilar à Luz (RPL).....	29
2.1.3. Fontes de Modulação da Motricidade Pupilar.....	30
2.2. Pupilometria.....	32
CAPÍTULO 3 - PLATAFORMA CONFIGURÁVEL DE AQUISIÇÃO DE IMAGENS	33
3.1. Computador pessoal	34
3.2. Módulo de captura e digitalização.....	35
3.3. Módulo de iluminação & estimulação.....	37
3.4. Protótipos desenvolvidos com base na plataforma configurável.....	38
3.4.1. Protótipo portátil.....	38
3.4.2. Protótipo fixo.....	41
3.5. Software.....	45
3.5.1. Módulo de aquisição de imagens	47
3.5.1.1. Configuração do sistema	47
3.5.1.2. Relação pixel/mm.....	47
3.5.1.3. Captura de imagem.....	49
3.5.1.4. Validação do ensaio.....	52
3.5.2. Módulo de análise de pupila.....	52

	20
3.5.2.1. Processamento de sinal.....	53
3.5.2.2. Rejeição de artefatos no pós-processamento.....	64
3.6. Avaliação da plataforma.....	65
3.6.1. Protótipo portátil.....	65
3.6.1.1. Vídeos animados.....	65
3.6.1.2. Vídeos Reais.....	68
3.6.2. Protótipo Fixo.....	74
3.7. Discussão.....	75
CAPÍTULO 4 - REFLEXO PUPILAR À LUZ NA CORUJA BURAQUEIRA	77
4.1. Introdução.....	77
4.2. Material e Métodos.....	78
4.2.1. Visão geral.....	78
4.2.2. Gravação do reflexo pupilar.....	79
4.2.3. Estímulo visual e protocolo experimental.....	79
4.2.4. Análise de dados.....	80
4.2.5. Estatísticas gerais.....	81
4.3. Resultados.....	82
4.3.1. Reflexo pupilar à luz.....	82
4.3.1.1. Efeitos dos níveis de luminosidade sobre o diâmetro pupilar.....	82
4.3.1.2. Efeitos dos níveis de luminosidade sobre a latência da constrição pupilar.....	83
4.3.1.3. Efeitos dos níveis de luminosidade sobre constrição e dilatação pupilar.....	85
4.3.1.4. Efeitos dos níveis de luminosidade sobre as velocidades de constrição e dilatação pupilar.....	86
4.4. Discussão.....	87

CAPÍTULO 5 - LIMIAR PARA DISCRIMINAÇÃO OBJETIVA DE SONOLÊNCIA INDUZIDA POR PRIVAÇÃO DO SONO COM DISPOSITIVO DE ACESSO SIMULTÂNEO A MÚLTIPLOS INDICADORES. 91

5.1. Introdução.....	91
5.2. Materiais e métodos.....	96
5.2.1. Sujeitos	96
5.2.2. Procedimento.....	97
5.2.3. Sistema integrado de estimulação visual e de aquisição de imagens	98
5.2.4. Métricas do PVT e da pupilometria.....	100
5.2.4.1. Metodologia e métricas do PVT.....	100
5.2.4.2. Metodologia e métricas da pupilometria	102
5.2.4.3. Metodologia e métricas integradas do PVT com a pupilometria	103
5.2.5. Indicadores de privação de sono.....	104
5.3. Resultados.....	107
5.4. Discussão.....	114

CAPÍTULO 6 - CONCLUSÃO E DESENVOLVIMENTO FUTURO 119

APÊNDICE A - CONSIDERAÇÕES PARA O DESENVOLVIMENTO DE UMA PLATAFORMA DE AQUISIÇÃO DE IMAGENS PARA A PUPILOMETRIA..... 133

A.1. Especificação do hardware e software.....	133
A.2. Iluminação	134
A.3. Aquisição de imagens.....	136
A.3.1. Sincronização entre estimulação e aquisição de imagem.....	136
A.3.2. Resolução Espacial.....	137
A.3.3. Resolução Temporal.....	137
A.3.4. Quantização da informação	137

A.3.5. Ruídos na Câmera.....	137
A.3.6. Normas de construção	138
A.4. Processamento de imagem.....	139
A.5. Medidas em valores absolutos	139
A.6. Distorções da lente.....	141
A.7. Ergonomia e Operabilidade	142
A.8. Expansibilidade do sistema	143
APÊNDICE B - ENSAIOS E TESTES.....	144
B.1. Taxa de amostragem.....	144
B.2. Sincronização.....	145
B.3. Teste de limitações de hardware e do sistema operacional Windows para aquisição de vídeo confiável em tempo real.....	146
APÊNDICE C - PUPILÔMETROS E EYETRACKERS.....	149
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DOS APÊNDICES	151

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO

A pupilometria visa produzir medições precisas das variações do tamanho da pupila. Ao longo das últimas décadas, o espectro de aplicação desta abordagem metodológica expandiu-se consideravelmente. Na pesquisa básica e na prática clínica é crescente a evidência da validade do uso da resposta pupilar como um marcador objetivo de natureza fisiológica e não invasivo do funcionamento normal e anormal do sistema nervoso (Barbur *et al.*, 2004; Bremner, 2009; Loewenfeld, 1999; Wilhelm *and* Wilhelm, 2003). Anormalidades pupilares têm mostrado uma correlação com um grande número de distúrbios fisiológicos e mentais, tais como: esclerose múltipla (Frauscher *et al.*, 2005; Pozzessere *et al.*, 1997), enxaqueca (Mylius *et al.*, 2003), diabetes (Ferrari *et al.*, 2010), alcoolismo (Rubin, 1980), depressão (Siegle *et al.*, 2004), ansiedade / síndrome do pânico (Kojima *et al.*, 2004), doença de Alzheimer (Fotiou *et al.*, 2009), Parkinson (Hori *et al.*, 2008), autismo (Fan *et al.*, 2009) e esquizofrenia (Granholm *and* Verney, 2004).

Na oftalmologia, a pupilometria faz parte de protocolos de rotina para a avaliação pré-operatória de cirurgia refrativa (Duffey *and* Leaming, 2004; Rosen *et al.*, 2002; Schnitzler *et al.*, 2000) e é considerada uma ajuda valiosa para o rastreamento de defeitos de campo visual e diagnóstico de lesões da via visual anterior (Folk *et al.*, 1987; Kardon *et al.*, 1991; Schmid *et al.*, 2000; Skorkovska *and* Wilhelm, 2009; Thompson *et al.*, 1980; Thompson *and* Pilley, 1976). Também é considerada essencial para distinguir anisocoria fisiológica (diferença no diâmetro pupilar entre ambos os olhos) pouco frequente e anisocoria decorrente da síndrome de Horner (Wilhelm, 2008).

Além da oftalmologia, a pupilometria encontra aplicações clínicas em outras áreas tais como, monitoramento de estados centrais em anestesiologia (Ibrahim *et al.*, 2003; Larson *et al.*, 1996), acompanhamento medicamentoso de toxicod dependência (Patil *et al.*, 2007; Richman *et al.*, 2004) e avaliação de processo cognitivo (Beatty, 1982; Granholm *and* Steinhauer, 2004; Moresi *et al.*, 2008; Porter *et al.*, 2007). Vários trabalhos também desmonstram com sucesso sua aplicação para detecção de sonolência e estados de fadiga, com base na motilidade da pupila (Bitsios *et al.*, 2006; Canny, 1986; Lowenstein *et al.*, 1963; McLaren *et al.*, 1992; Merritt *et al.*, 2004; Nakayama *et al.*, 2008; Nikolaou *et al.*, 2008; Wilhelm *et al.*, 2001; Wilhelm *et al.*, 2009; Wilhelm *et al.*, 1998).

Na atualidade, pupilômetros modernos geralmente consistem de um sensor de

imagem com resposta no espectro infravermelho (IR) acoplado a uma interface digital para comunicação com um computador onde é realizada a gravação e processamento de dados pupilares. Embora os princípios operacionais destes sensores sejam diferentes, eles compartilham o mesmo requisito básico da idéia pioneira de Lowestein e Loewenfeld (1958), que permite a medição de pupila em condições escotópicas (sem presença de luz visível). Vários modelos de pupilômetros estão disponíveis comercialmente (AMTech, 2008; Bradley *et al.*, 2005) e seu uso difundido na prática clínica é obviamente interessante para padronizar procedimentos e comparar dados. Esforços neste sentido são realmente evidenciados pelo número considerável de artigos publicados sobre o desempenho relativo de tais sistemas comerciais (Bootsma *et al.*, 2007; Bradley *et al.*, 2005; Bradley *et al.*, 2011; Chaglasian *et al.*, 2006; Chaidaroon and Juwattanasomran, 2002; Kohnen *et al.*, 2003; Pop *et al.*, 2002; Scheffel *et al.*, 2010). Como alternativa aos pupilômetros encontram-se os *eyetrackers* que apresentam um alto grau de sofisticação e em alguns casos (Arrington Research, 2009), com versatilidade de adaptação às especificidades dos experimentos. Os *eyetrackers* têm como principal função a identificação dos movimentos oculares. Dentre as limitações presentes em alguns *eyetrackers*, encontram-se a indisponibilidade da medida do diâmetro da pupila e a não distinção entre um evento de piscamento e uma falha de captura ou medição, indicando para ambas as situações uma pupila com diâmetro zero. Além disso, apresentam um alto custo, que varia de dezenas a centenas de milhares de dólares e oferecem poucas perspectivas para a extensibilidade, devido à sua natureza proprietária.

Diante deste cenário, vários grupos de pesquisa têm desenvolvido e descrito suas próprias soluções para pupilometria IR automatizada (Bracha *et al.*, 2003; Ferrari, 2008; Fotiou *et al.*, 2000; Hachol *et al.*, 2007; Watanabe and Oono, 1982). Embora apresente um desempenho elevado em certos aspectos, tais protótipos personalizados também têm desvantagens e limitações, que podem incluir, entre outros: baixa resolução espacial, baixa frequência de amostragem, impossibilidade de sincronização com outros dispositivos, grau relativamente elevado de complexidade para a integração de hardware e componentes de difícil acesso no mercado, utilização elevada de componentes proprietários, aumentando o custo global do sistema e necessidade de sólidos conhecimentos em programação de linguagem tais como C e C++, limitando o campo de desenvolvimento para programadores especialistas.

Na tentativa de contornar alguns desses problemas, o presente trabalho teve como objetivo principal o desenvolvimento de uma plataforma configurável de aquisição de

imagem, de baixo custo, de fácil montagem e reprodutibilidade baseada em uma câmera digital compacta, *off-the-shelf*, *plug-and-play* e autônoma, capaz de capturar e digitalizar imagens em tempo real. A plataforma é baseada em computador pessoal padrão PC com sistema operacional Windows que, embora não dê suporte a tempo real, apresenta um grande número de usuários e difusão comercial. Um *software* com uma estrutura modular gerencia a interoperabilidade da câmera, a transmissão de dados, o armazenamento de imagens e a estimativa do diâmetro da pupila. Desenvolvido em LabVIEW, ambiente de programação gráfica de alto nível, o *software* oferece facilidade de expansão e flexibilidade para troca de módulos de programa. Vale ressaltar que a plataforma também suporta expansões, como por exemplo, a incorporação de uma segunda câmera para abordagem binocular.

O desenvolvimento desta plataforma configurável é o ponto central desta tese e sua aplicabilidade foi testada em dois modelos distintos: Reflexo pupilar à luz na coruja buraqueira (*Athene cunicularia*) e Limiar para discriminação objetiva de sonolência induzida por privação do sono com dispositivo de acesso simultâneo a múltiplos indicadores. Estes dois estudos constituem exemplos típicos de reconfigurações de software e hardware da plataforma configurável para aquisição de imagens.

1.1. Objetivos

Este trabalho teve como objetivo geral a construção de uma plataforma (*hardware e software*) configurável para aquisição de imagens capaz de atender a diversas aplicações e, em especial, a pupilometria.

Objetivos específicos:

- Identificar as aplicações clínicas e de pesquisa no contexto da pupilometria para aplicação da plataforma desenvolvida.
- Montar configurações que atendam a algumas aplicações e que demonstre a flexibilidade de configuração da plataforma.
- Aplicar as configurações implementadas em ensaios experimentais visando a validação da plataforma desenvolvida.

Espera-se, com este trabalho, que um maior número de pesquisadores tenha acesso a uma ferramenta de aquisição de imagens no contexto da pupilometria e que possibilite pesquisas segundo suas especificidades. Embora existam diversos pupilômetros comerciais (Wilhelm *and* Wilhelm, 2003), o desenvolvimento do pupilômetro propicia o domínio da

tecnologia e possibilita a inserção de funcionalidades específicas, que não são encontradas em um único modelo de pupilômetro comercial, de forma a permitir investigações com novos paradigmas.

1.2. Estrutura do Trabalho

No Capítulo 2 são apresentadas as bases fisiológicas do olho humano e o conceito de pupilometria. O Capítulo 3 trata do desenvolvimento da plataforma configurável para aquisição de imagens, os respectivos testes e a discussão dos resultados obtidos, bem como as limitações encontradas. No Capítulo 4 é apresentada a primeira configuração da plataforma aplicada no estudo do reflexo pupilar à luz na coruja buraqueira. No Capítulo 5 é apresentada uma revisão bibliográfica abordando as principais técnicas aplicadas na quantificação da sonolência e uma segunda configuração da plataforma de aquisição aplicada em um estudo piloto sobre avaliação de sonolência. No Capítulo 6 são apresentadas a análise e discussão dos resultados obtidos, assim como as propostas de trabalhos futuros. Como informação complementar do presente trabalho, o Apêndice A contém algumas considerações importantes para o desenvolvimento de uma plataforma de aquisição de imagens para a pupilometria. No Apêndice B são apresentados alguns testes da plataforma e da câmera Firefly MV utilizada no projeto, que podem ser úteis num processo de replicação da plataforma. Finalmente, no Apêndice C é mostrado um quadro comparativo das características técnicas de pupilômetros comerciais, protótipos e da plataforma desenvolvida.

CAPÍTULO 2 - BASES FISIOLÓGICAS E A PUPILOMETRIA

2.1. A Pupila

A pupila é um importante marcador em diversas aplicações clínicas, pois por meio dela é possível observar o estado funcional das vias aferentes e eferentes do sistema visual, distúrbios psicológicos, assim como a morte cerebral.

A pupila é uma das estruturas do olho (Figura 1B), cuja óptica pode ser comparada a uma câmera pinhole (Figura 2). A luz que penetra através do orifício (pupila), definido pelo diafragma (íris), é projetada na superfície interna da câmera (retina) formando a imagem. A íris (Figura 1A) apresenta uma pigmentação que a torna opaca à luz, limitando sua entrada apenas pelo orifício pupilar. A regulação da quantidade de luz é realizada continuamente via midríase (dilatação) e miose (constricção) da pupila (Kandel *et al.*, 2000).

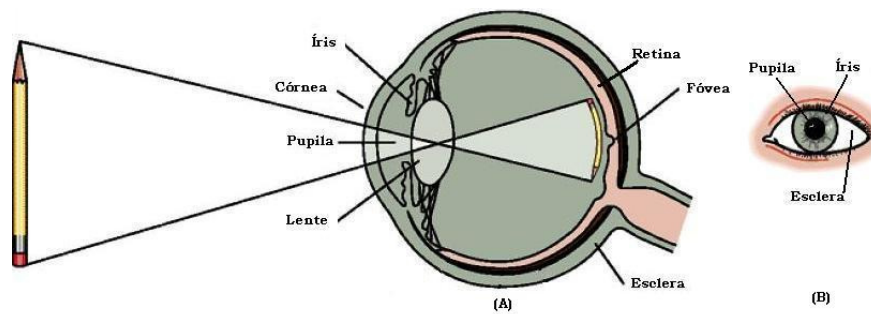


Figura 1 - O Olho.
Fonte: Adaptada de Kandel *et al.* (2000).

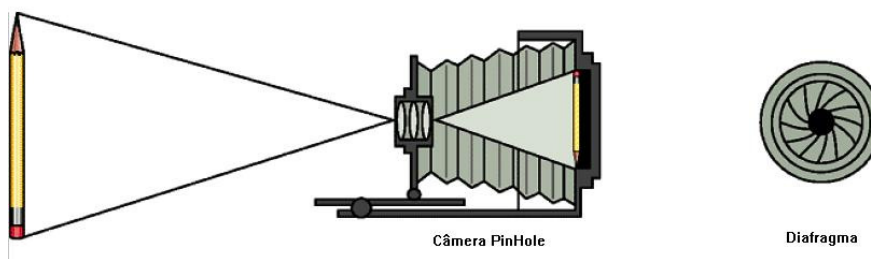


Figura 2 – Câmera.
Fonte: Adaptada de Kandel *et al.* (2000).

2.1.1. Motricidade da pupila

O tamanho da pupila é controlado por dois músculos lisos antagonistas. A miose (Figura 3) é realizada pelo músculo esfíncter sob controle do sistema parassimpático,

enquanto que a midríase (Figura 4) é realizada pelo músculo dilatador comandado pelo sistema simpático (Barbur, 2003). Em ambiente escuro a pupila se dilata (midríase) devido à redução da atividade parassimpática sobre o músculo esfíncter (relaxamento). Estando o sujeito em estado de alerta, a dilatação da pupila é produzida pela atividade das fibras simpáticas cervicais. Contrariamente, o aumento de luz na retina provoca a constrição da pupila (miose) devido à atuação do sistema parassimpático no músculo esfíncter.

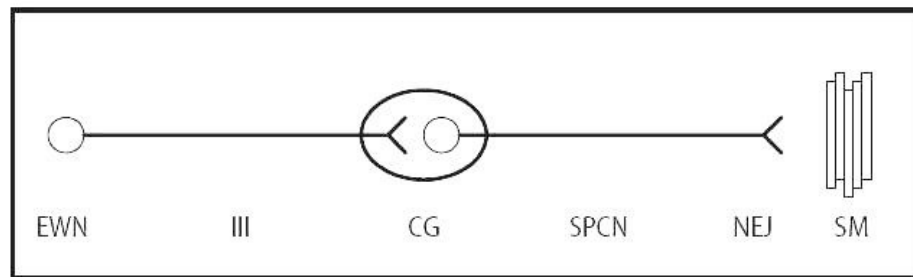


Figura 3 - Miose – Comando pelo sistema nervoso parassimpático.
Músculo Esfíncter (SM) - Nervo Neuro-Efetor (NEJ) – Nervo Ciliar Curto Posterior (SPCN) – Gânglio Ciliar (CG) – Nervo Oculomotor (III) -Núcleo de Edinger-Westphal (EWN) - Fonte: Adaptada de Bremner (2009).

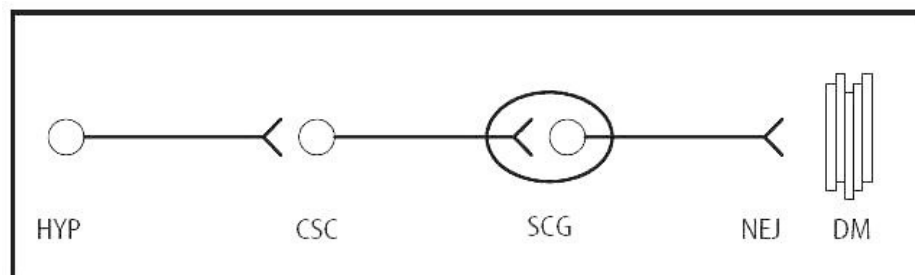


Figura 4 - Midríase – Comandada pelo sistema nervoso simpático.
Músculo Dilatador (DM) – Gânglio Cervical Superior (SCG) – Centro Cilioespinal de Budge - Waller (CSC) – Hipotálamo (HYP) - Fonte: Adaptada de Bremner (2009).

O balanceamento dos sistemas simpático e parassimpático é dependente não só da estimulação fótica, mas também de uma série de fatores como: idade, genético, estado de vigília e ruído dentre outros.

Lowenstein *et al.* (1962) apud Goldwalter (1972) mostraram que o diâmetro da pupila pode variar de 1,5 a pouco mais de 9 milímetros no homem, e podem reagir ao estímulo em apenas 0,2 s. Em 2000, Schnitzler *et al.* realizaram ensaios com iluminação escotópica (0,5 a 0,6 lux) com dois equipamentos distintos, obtendo um diâmetro médio da pupila de $6,16 \pm 1,20$ mm com uma faixa de variação de diâmetros entre 3,20 a 9,00 mm. Estes experimentos foram realizados com 33 participantes (20 mulheres e 13 homens) com média de idade de 36 ± 9 anos na faixa de 19 a 55 anos.

2.1.2. Reflexo Pupilar à Luz (RPL)

Em testes funcionais da pupila, foi observado que estando o olho exposto à luz ambiente constante, o tamanho da pupila permanece estável. Caso ocorra um estímulo luminoso mais intenso, o sistema parassimpático atuará provocando a constrição da pupila (Ropper *and* Brown, 1997). Este comportamento é conhecido como reflexo pupilar à luz (RPL), cuja função básica é ajustar o nível de iluminação na retina devido às variações de luminosidade no ambiente. Este comportamento, no contexto da engenharia, ilustra um caso típico dos sistemas de controle em malha fechada.

A resposta RPL apresenta uma componente denominada *steady-state* (regime permanente), também conhecida como sustentação, que determina o tamanho da pupila conforme o nível de luminosidade no ambiente. Existe uma segunda componente, denominada transitória, que corresponde à constrição/dilatação da pupila devido ao incremento/decremento do fluxo de luz na retina (Barbur, 2003).

O sistema visual humano apresenta uma característica interessante em relação ao RPL, denominada resposta consensual. Quando um estímulo de luz é aplicado em um único olho (Figura 5), sua pupila sofre uma constrição que é denominada resposta direta, entretanto, a constrição também é observada na pupila do outro olho cuja resposta é dita consensual. O RPL vai muito além do que é descrito no seu mecanismo primário, que é o ajuste de luminosidade na retina. Clinicamente, o RPL atua como indicador do estado funcional das vias que compõem o sistema visual.

No RPL, a informação capturada pela retina (Figura 5) é levada ao pré-teto do mesencéfalo via nervo óptico. Esta informação é projetada bilateralmente nos neurônios parassimpáticos pré-ganglionares no núcleo de Edinger-Westphal (EWN). O EWN é constituído por neurônios constritores da pupila que atuam como um gerador de sinal de alta frequência que é modulado por um conjunto de entradas, sendo a maioria projeção aferente da retina via núcleo pré-tectal olivar (OPN) do mesencéfalo. Por meio da saída parassimpática do núcleo oculomotor a informação modulada é passada ao gânglio ciliar, que por sua vez inerva o músculo liso do esfíncter da pupila através de neurônios pós-ganglionares, provocando assim a constrição da pupila. Já a dilatação é realizada por fibras simpáticas cervicais, que emergem do gânglio cervical superior e inervam o músculo radial da íris.

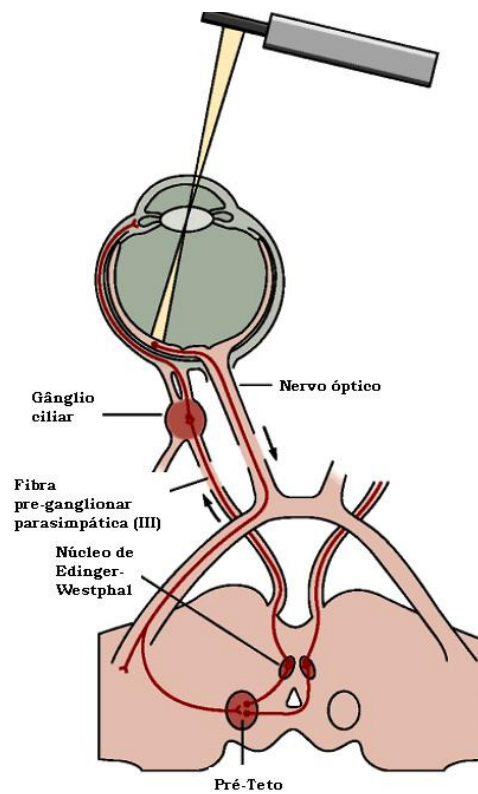


Figura 5 - Reflexo Pupilar.
Fonte: Adaptada de Kandel *et al.* (2000).

2.1.3. Fontes de Modulação da Motricidade Pupilar

A pupila é uma rica fonte de informação, pois ela é capaz de responder a estímulos de todas as modalidades sensoriais do corpo humano, sendo esta resposta, modulada por diversos parâmetros intrínsecos e extrínsecos ao corpo. Tryon (1975) catalogou 23 fontes (Tabela 1) responsáveis pela variação da pupila, sendo várias delas detalhadas em trabalhos anteriores de Goldwater (1972) e Hess (1972) apud (Tryon, 1975). O propósito básico desta seção é apresentar as possíveis fontes de modulação que influenciam na resposta pupilar.

Tabela 1 - Fontes de estimulação da Pupila
 Fonte: Adaptada de Tryon (1975).

	Fonte	Descrição
1	Reflexo à Luz	A constrição da pupila aumenta em função da intensidade luminosa e, a dilatação, em função do decréscimo da intensidade luminosa.
2	Reflexo ao Escuro	Dilatação momentânea devido à interrupção de uma fonte de luz constante.
3	Reflexo Consensual	O estímulo em um olho afeta igualmente o outro. A falha neste comportamento é denominada anisocoria.
4	Reflexo de aproximação	Constrição devido à aproximação do ponto focado.
5	Reflexo do fechamento da pálpebra	Constrição momentânea seguida de dilatação.
6	Agitação pupilar (Híppus)	Trocas contínuas no diâmetro da pupila. Movimentos dilatação e constrição contínuos abaixo de 0,04Hz provocados pelos músculos dilatador e esfíncter.
7	Reflexo psicossensório	A restauração de reflexos reduzidos devido a estímulo externo.
8	Idade	Decréscimo do diâmetro e aumento na variabilidade da pupila em função da idade.
9	Hábito ou costume	Quando o sujeito encontra-se habituado a um determinado estímulo o diâmetro da pupila decresce, a velocidade de constrição aumenta e a magnitude do reflexo diminui.
10	Fadiga	Diâmetro decresce, amplitude e frequência de oscilação aumentam. Idade amplifica este efeito.
11	Relaxamento	O estado de relaxamento sugere aumento do tamanho da pupila.
12	Somação binocular	A constrição é maior quando os dois olhos são estimulados.
13	Comprimento de onda	Estímulo cromático provoca maior dilatação do que estímulo acromático (branco), assim como, quanto menor o comprimento de onda maior a constrição da pupila.
14	Álcool	A pupila dilata em função do percentual de álcool no sangue.
15	Preferência sexual	Dilatação em função da estimulação sexual.
16	Diagnóstico Psiquiátrico	Resposta anormal da pupila em esquizofrênicos e neuróticos.
17	Tamanho da pupila	Estímulos envolvendo pupilas maiores evocam mais dilatação.
18	Inclinação política	Dilatação devido a preferências políticas.
19	Estímulo semântico	Pequenos diâmetros de pupila são associados a limiares de reconhecimento.
20	Paladar	Sabor agradável evoca dilatação.
21	Carga de processamento de informação	Dilatação aumenta proporcionalmente a dificuldade do problema.
22	Relevância da tarefa	Respostas motoras aumentam as respostas pupilares.
23	Incentivo	Pupila aumenta diante de solução de problemas.

Após 2000, estudos baseados na pupila continuam a despertar interesse na comunidade científica, o que pode ser constatado em função do volume de trabalhos publicados. Seguem alguns exemplos de experimentos que utilizam a pupila como marcadora de perturbações fisiológicas ou psíquicas: autismo (Fan *et al.*, 2009), desordem do pânico (Kojima *et al.*, 2004), Parkinson (Hori *et al.*, 2008), regulação cardiovascular (Bar *et al.*, 2008), desordem autonômica (Bremner, 2009), carga de processamento (Siegle *et al.*, 2008), estudos com drogas (Koudas *et al.*, 2009), diabetes (Dutsch *et al.*, 2004; Ferrari, 2008) e Alzheimer (Fotiou *et al.*, 2009).

2.2. Pupilometria

A pupilometria é uma técnica que permite a medição do diâmetro da pupila possibilitando o estudo de seu comportamento em relação aos diversos fatores que o modulam. Também chamada de pupilografia, ela pode ser realizada manualmente ou de forma automática. A pupilometria automática emprega pupilômetros que viabiliza o estudo da dinâmica da pupila fornecendo medidas mais exatas e sem vícios do examinador tais como: tempos de latência e fechamento palpebral. Também permite o armazenamento das coletas para futuras análises e estudos do comportamento da pupila, viabilizando um melhor entendimento fisiológico e patológico (Wilhelm *and* Wilhelm, 2003).

No estudo da sonolência, tema do capítulo 5 desta tese, por meio de ferramentas analíticas aplicadas nas medidas oriundas da pupilometria também é possível a distinção de sujeitos sem e com distúrbios do sono (Wilhelm *et al.*, 2009), entretanto sua aplicação mais usual é na avaliação das vias do sistema visual assim como a do sistema nervoso autônomo – SNA (Teikari, 2007).

CAPÍTULO 3 - PLATAFORMA CONFIGURÁVEL DE AQUISIÇÃO DE IMAGENS

A especificação de um sistema de aquisição de imagens tem como características básicas o nível de quantização da informação, a resolução espacial e temporal. Em função das especificidades de sua aplicação, outras características deverão ser atendidas tais como: capacidade de sincronização com dispositivos externos, amostragem determinística, pré-processamento da imagem *in circuit*, dentre outras. Estas características além de influenciar o custo do projeto também determinam a abrangência dos experimentos suportados pelo sistema. Para uma escolha criteriosa é fundamental que se conheça o escopo de suas aplicações, neste caso específico, a pupilometria.

A pupilometria no contexto estático tem como desafio a qualidade da medida, pois nela devem ser informados valores precisos de centro e raio da pupila ou uma descrição do seu formato e que não se limita a um modelo geométrico representado por um círculo ou uma elipse (Bradley *et al.*, 2005; Fountas *et al.*, 2006). Neste caso, fatores como o posicionamento da câmera em relação ao olho e o algoritmo responsável pela descrição da pupila devem ser encarados como os componentes mais críticos do sistema. Por outro lado, na pupilometria dinâmica, cujo alvo é o comportamento da pupila ao longo tempo (Nakayama *et al.*, 2008; Wilhelm *et al.*, 1998), deve ser também garantido o determinismo da aquisição de imagens e a manipulação do grande volume de dados. Buscando atender às demandas das pesquisas no contexto da pupilometria, esta plataforma foi desenvolvida de forma estruturada em módulos funcionais de *hardware* e *software*, que serão descritos a seguir.

A plataforma configurável de aquisição de imagens (Figura 6) é constituída de um módulo de iluminação e estimulação, um módulo de captura e digitalização de imagens e um computador pessoal responsável pelo armazenamento e processamento de dados. A conexão entre o computador pessoal e o módulo de captura e digitalização de imagens é realizada segundo padrão IEEE 1394 (Association, 2004), que estabelece o padrão elétrico dos sinais de dados assim como da alimentação do módulo de captura e digitalização. O padrão IEEE 1394 foi lançado em 1995 tendo sua origem no padrão de comunicação de câmeras digitais Firewire de propriedade da Apple Inc., lançado em 1986. O módulo de iluminação e estimulação pode ser controlado pelo *software* que gerencia o processo de aquisição de imagens. A plataforma suporta configuração de suas resoluções temporal e espacial e permite a sincronização da captura de imagens com dispositivos externos.

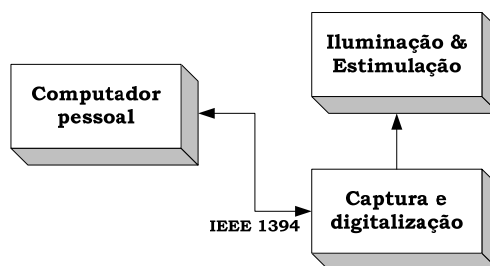


Figura 6 – Módulos e interconexões da plataforma de aquisição de imagens.

3.1. Computador pessoal

Na Figura 7 são mostrados os componentes de hardware utilizados no desenvolvimento da plataforma. O computador utilizado é configurado com um processador Intel Duo core, 1,6MHZ, 2G de memória RAM com o sistema operacional Windows Vista (Figura 7A). Para computadores que não possuem a porta IEEE1394 nativa é necessária a utilização de uma placa PCMCIA (*Personal Computer Memory Card International Association*) (Figura 7B), com conexão de seis vias (Figura 7C), que provê a transferência de dados e alimentação do módulo de captura e digitalização de imagens.

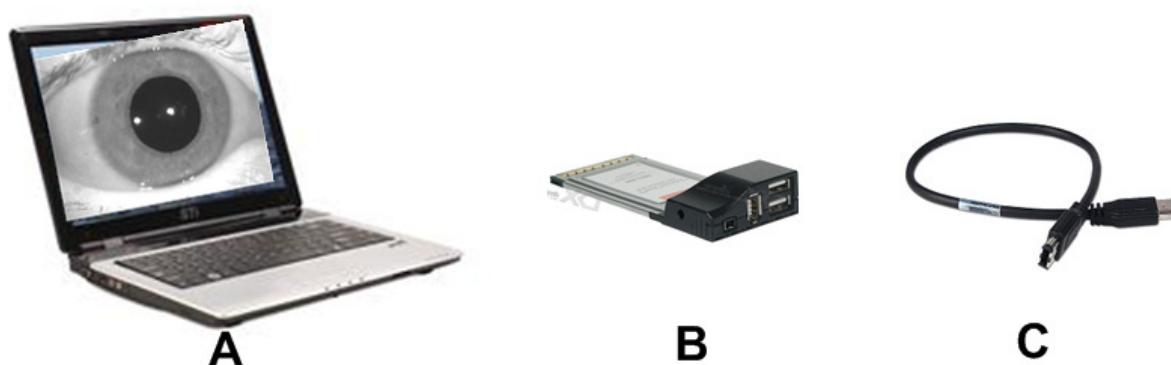


Figura 7 - Hardware responsável pelo controle, recepção e armazenamento de dados. (A) Computador pessoal utilizado no desenvolvimento da plataforma. (B) Placa PCMCIA para disponibilização da conexão IEEE 1394. (C) Cabo de seis vias para conexão IEEE 1394, responsável pela transferência de dados assim como pela alimentação do módulo de captura e digitalização de imagens.

A conexão IEEE 1394 em computador de mesa é realizada com a adaptação de uma placa PCI (*Peripheral Component Interconnect*) com a respectiva conexão. Entretanto, para computadores portáteis apenas alguns fabricantes mantêm, para alguns modelos específicos de sua linha, a conexão IEEE 1394, sendo esta limitada a 4 pinos, não disponibilizando as vias de alimentação da câmera. Para superar essa limitação, a alimentação da câmera pode ser suprida por uma conexão USB com uma simples adaptação do cabo IEEE 1394. Vale ressaltar que as especificações IEEE 1394 recomendam tensões de alimentação que variam entre 8 e

35V, que é em princípio incompatível com esta adaptação. Entretanto, em testes realizados com a câmera FireFly®MV (Point Grey Research, 2009b), utilizada na plataforma, a alimentação de 5 V provida pela USB permite o seu correto funcionamento.

3.2. Módulo de captura e digitalização

O módulo de captura e digitalização de imagens se fundamenta na câmera digital FireFly MV, que trabalha de forma autônoma, eliminando assim a necessidade de uma placa de aquisição dedicada. Projetada segundo o padrão industrial conhecido como TA 1394 *Digital Camera Specification* - IIDC (Association, 2004), permite ao usuário definir, de forma flexível e em tempo real, uma grande variedade de parâmetros, tais como os modos de vídeo, o ganho, o tempo de exposição e região de interesse na imagem (ROI). Sua conexão IEEE 1394 suporta transferência de dados isócrona, garantindo transmissão de imagens em tempo real e com baixa latência, provendo alimentação em paralelo com as vias de dados. Apesar de seu baixo custo, de cerca de \$ 325,00, (DEVKIT-01-0005 640 x 480 *Color Firefly MV with CS-mount lens holder, enclosure & Firefly MV Development Accessory Kit*) disponibiliza em seu painel traseiro uma conexão (Figura 8) que possibilita alimentação externa da câmera, 4 canais de *I/O* (*Input Output*) e uma saída de alimentação para acoplamento de circuitos externos.

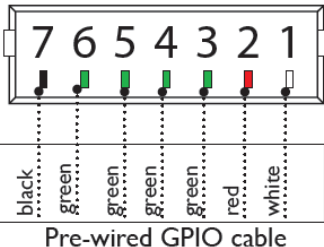
Diagram	Pin	Function	Description
 <p>Pre-wired GPIO cable</p>	1	Vext	Power camera externally
	2	+3.3V	Power external circuitry up to a total of 150mA
	3	IO0	Input / Output (Default Trigger_Src)
	4	IO1	Input / Output
	5	IO2	Input / Output / RS232 Transmit (TX)
	6	IO3	Input / Output / RS232 Receive (RX)
	7	GND	
<p>To configure the GPIO pins, consult the "General Purpose Input / Output" section of the PGR IEEE-1394 <i>Digital Camera Register Reference</i>.</p>			

Figura 8 - Descrição dos pinos da câmera (Point Grey Research, 2009b).

Os *I/Os* quando configurados como entradas utilizam resistores de *pull-up* que levam suas respectivas tensões para 3,3V (Figura 9). Por meio dos canais de *I/O* da câmera, é possível sincronizar a captura a partir de um sinal de *trigger* gerado por dispositivo externo ou mesmo com um sinal de *stroke* (pulso indicador de início do processo de captura) gerado pela própria câmera. O *firmware* da câmera permite três modos de sincronização: (1) modo

quadro-a-quadro, onde um pulso externo deve ser gerado para captura de cada quadro (exclusivo no pino 3 - Figura 9). Neste modo, a taxa de aquisição não é capaz de atingir a sua taxa nominal máxima de 120 Hz no modo livre (Point Grey Research, 2009b); (2) modo de "videoclipe", que conta com um único pulso para ativar o canal *I/O* responsável pela sinalização do início da gravação de uma sequência de quadros. Este modo começa a captura aleatoriamente dentro de um período de duração de menos de um quadro; (3) modo de geração de pulso, que emite um pulso (*strobe*) de TTL (*Transistor-Transistor Logic*) de largura ajustável no início do processo de integração de imagem caracterizado pela exposição do sensor de câmera. Neste modo, o sinal de *strobe* pode ser utilizado para iniciar o processo de estimulação. Para os modos (2) e (3), a câmera é capaz de trabalhar em sua taxa de aquisição máxima.

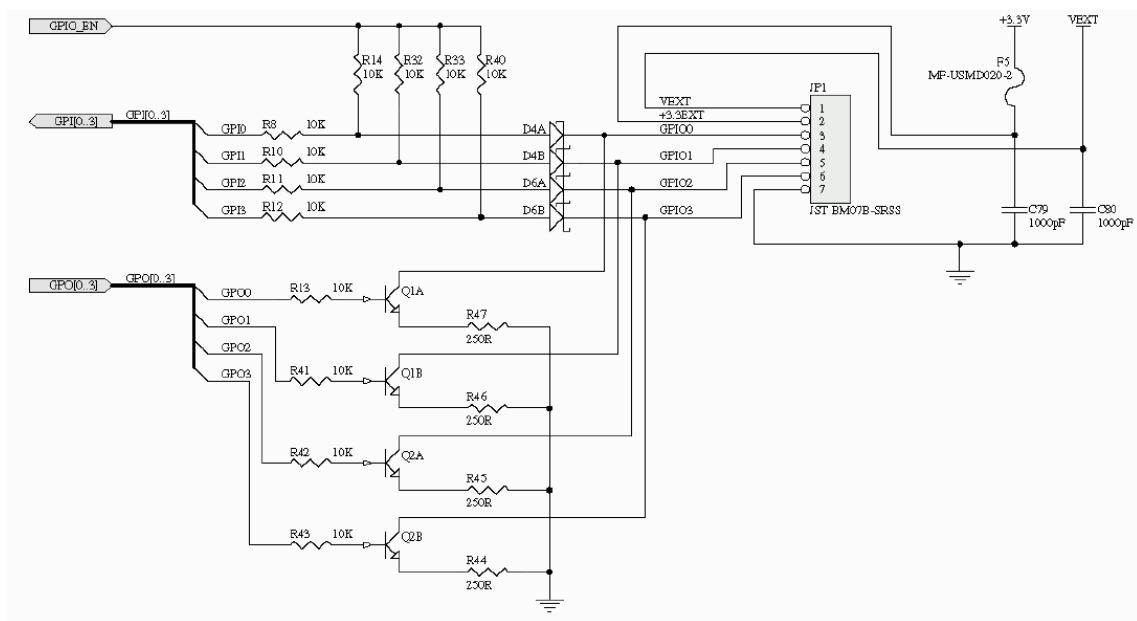


Figura 9 - Diagrama elétrico dos canais de *I/O* (Point Grey Research, 2009b).

Quando configurados como entrada, os *I/Os* também podem ser utilizados para geração de rótulos de identificação de padrões de estimulação. A Figura 10 ilustra um quadro típico capturado pela câmera (Figura 10A) e a ampliação (*zoom* de 4X) (Figura 10B) da região selecionada pelo retângulo de borda branca, na Figura 10A. É possível observar na Figura 10B que os primeiros pixels presentes na primeira linha da imagem apresentam níveis de cinza discrepantes em relação aos seus vizinhos (pixels restantes da primeira linha e pixels da segunda linha). Esta discrepância ocorre, pois estes pixels correspondem a informações

relativas aos *I/Os* e não aos respectivos sensores de luz presentes na câmera.

Juntamente com os *I/Os* também é gravado o *timestamp* que corresponde ao tempo de captura de cada quadro. Esta informação é importante para aplicações que são executadas em sistemas operacionais que não dão suporte a tempo real, porque permite a identificação de quadro não gravado no computador. O *timestamp* é independente do *clock* do barramento de computador, recurso este intrínseco de câmeras digitais, mas nem sempre esta independência está presente nas câmeras USB (*Universal serial bus*).

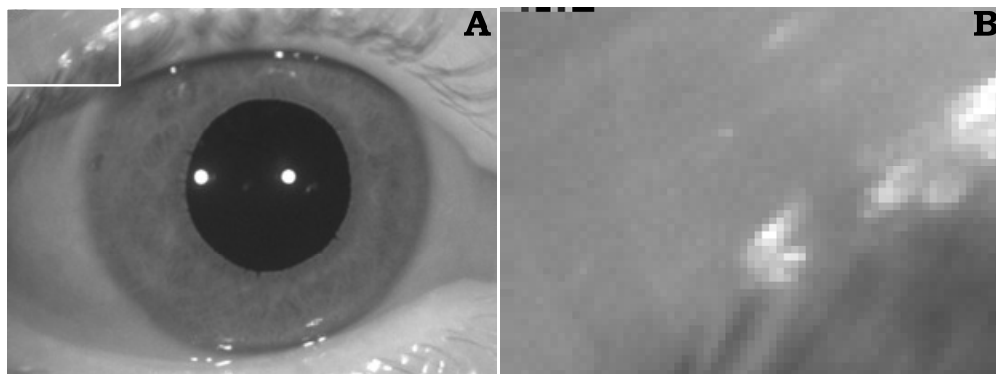


Figura 10 - Imagem capturada com *timestamp* e *I/Os* inseridos.

(A) Canto superior esquerdo da imagem onde as informações são gravadas. (B) Amplificação da região delimitada por um retângulo com borda branca. Em destaque na primeira linha os pixels correspondentes ao *timestamp* e *I/Os*.

3.3. Módulo de iluminação & estimulação

O módulo de iluminação é opcional podendo ser utilizado em função da demanda da aplicação. Para aplicações onde se faz necessário a captura em ambiente escotópico (sem presença de luz visível), o LED IR (*infrared*) VSMG3700 (Semiconductors, 2010) foi testado com sucesso. Seu pico de irradiação em 850 nm (Figura 11) encontra-se dentro da curva de resposta do sensor da câmera (Figura 12).

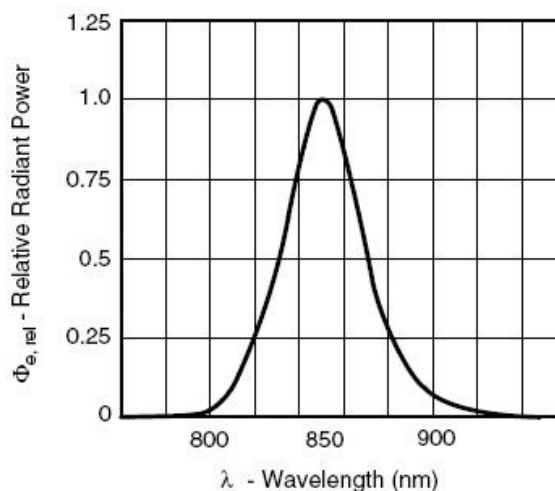


Figura 11 - Espectro de irradiação dos LEDs IR utilizados para iluminação da cena (Semiconductors, 2010).



Figura 12- Curva de resposta do sensor da câmera (Point Grey Research, 2009b).

Assim como a iluminação, a estimulação também é opcional e pode ser provida pelo próprio sistema por meio de LEDs conectados aos canais de *I/O* da própria câmera (Figura 8) ou externamente por dispositivos tais como monitores de vídeo, estimulador visual com LEDs ou estimulador térmico.

3.4. Protótipos desenvolvidos com base na plataforma configurável

Buscando atender às demandas experimentais, foram desenvolvidos dois protótipos monoculares de aquisição de imagem. O primeiro protótipo é portátil e adequado para a anatomia humana, sendo projetado para realizar coleta da dinâmica pupilar sob condições controladas de iluminação ambiente. O segundo protótipo é fixo, em princípio, mais versátil uma vez que a câmera se encontra afastada do sujeito, não limitando seu campo de visão. Assim como o protótipo portátil trabalha em ausência ou presença de luz visível, podendo ser utilizado em experimentação humana e animal.

3.4.1. Protótipo portátil

O protótipo construído é monocular sendo concebido para aplicações em pesquisas de laboratório, em clínicas e em ambientes externos. Este protótipo tem como objetivo a realização de ensaios em ambientes escotópicos, sendo tal condição garantida pela máscara de mergulho (Figura 13A), com suas lentes substituídas por um tampão opaco e uma placa de circuito impresso onde se encontra adaptada a câmera. A Figura 13B mostra uma situação

típica de ensaio em que o processo de fixação da máscara no sujeito garante a distância constante entre câmera e olho ao longo do exame.

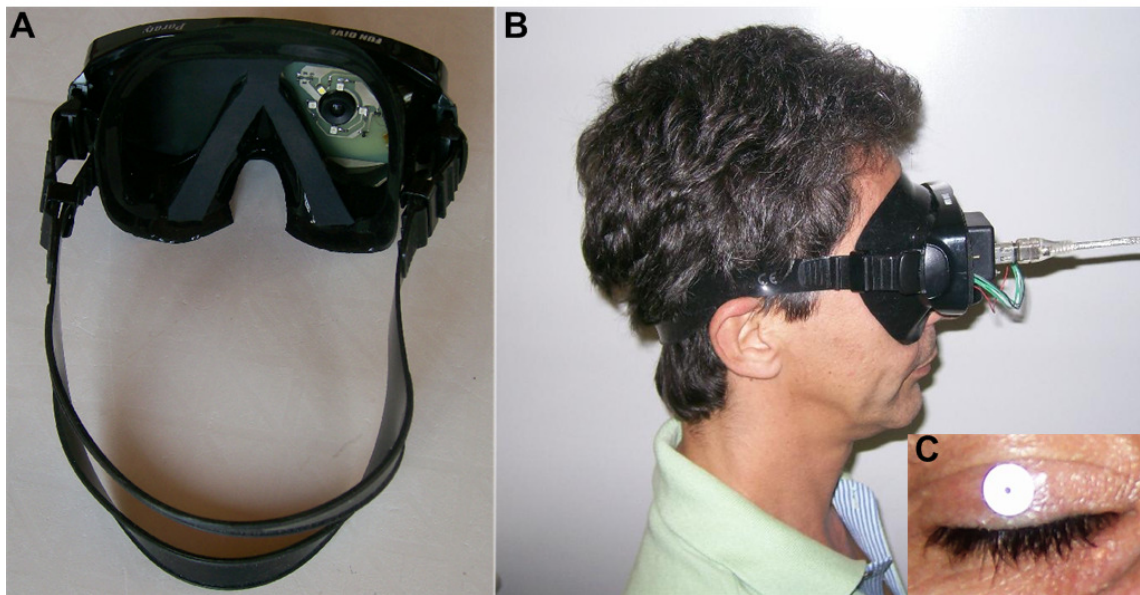


Figura 13 - Protótipo portátil para análise de pupila.

(A) Visão geral da parte interna dos óculos. (B) Sujeito usando a máscara durante uma sessão de gravação. (C) Padrão circular (lentejola branca) afixado à pálpebra superior, a fim de determinar a relação de pixel / mm necessária para medições absolutas de tamanho da pupila.

O padrão branco circular (lentejola) colocado sobre a pálpebra (Figura 13C) é utilizado para converter os valores de pixel em unidades métricas. A solução adotada prima pela simplicidade, pois utiliza recursos inerentes do pupilômetro associado à aplicação do padrão (lentejola) (Figura 14). Devido à sua concavidade, a lentejola se adapta à pálpebra do sujeito sem causar desconforto, além de não causar risco, ser de baixo custo e descartável, evitando qualquer problema de contaminação. Antes de sua aplicação pode ser esterilizada com álcool sem sofrer deformação. As lentejoulas são produzidas com tamanhos predefinidos com 10, 8 e 6 mm, sendo a de 6 mm considerada a mais confortável nos ensaios experimentais realizados.

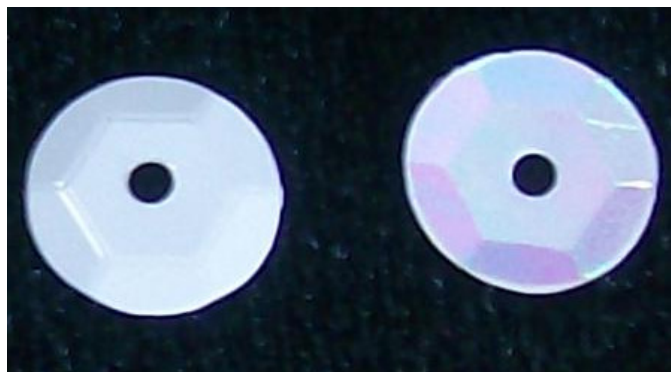


Figura 14 - Lentejola de 6mm usada na relação pixel/mm.

A imagem da esquerda mostra a face externa (convexa) e a da direita a face interna (côncava) da lentejola.

Para a obtenção de uma interface leve e confortável, a placa de circuito impresso da câmera Firefly MV foi retirada de seu invólucro padrão e o suporte de fixação da lente CS (Figura 15A) foi substituído pelo suporte de micro lente (Figura 15B). Na placa de circuito impresso do protótipo portátil (Figura 15C) encontra-se adaptada a placa da câmera e o módulo de iluminação que contém quatro LEDs IR deslocados 90°, que são responsáveis pela iluminação da cena. Os LEDs são comandados por meio dos canais de *I/O* da câmera (Figura 9) conforme diagrama elétrico mostrado na Figura 16. Os *I/O*₃ e *I/O*₄ são responsáveis, respectivamente, pelo controle dos LEDs L1 e L2 (horizontal) e dos LEDs L3 e L4 (vertical). Já a estimulação visual é provida por um LED branco (Figura 15C – L5), posicionado a 45° dos LEDs IR que delimitam o 4º quadrante.

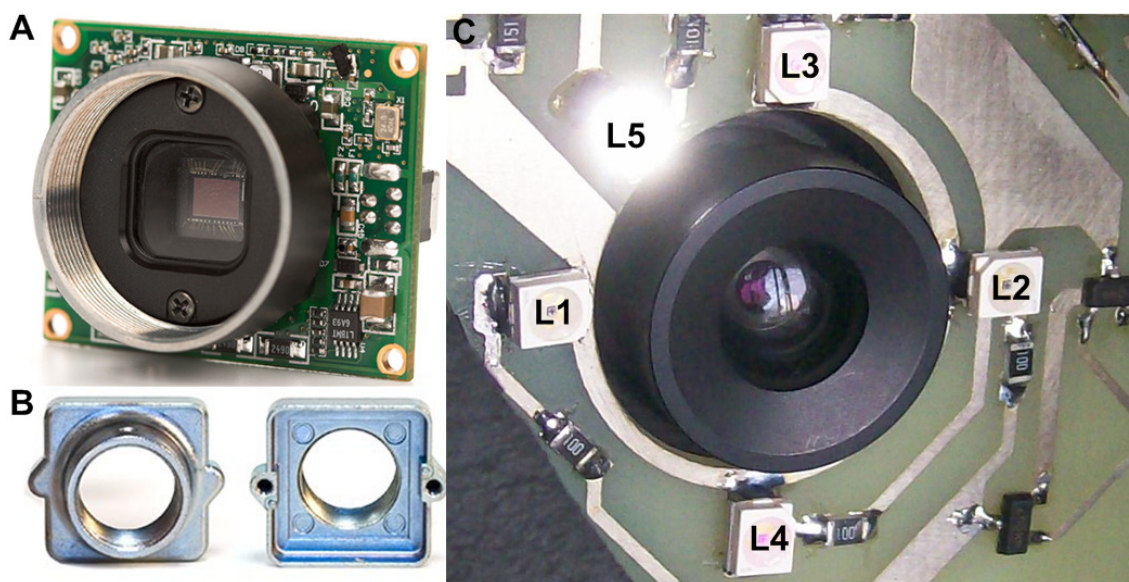


Figura 15 - (A) Placa de circuito impresso da câmera Firefly MV com suporte de sustentação CS. (B) Suporte de sustentação da micro lente, vista externa e interna. (C) Adaptação da placa da câmera FireFly MV à placa de circuito impresso do protótipo, LEDs IR (L1-L4) distribuídos ao redor da micro lente da câmera (para um iluminação uniforme) e um LED branco (L5) para a estimulação visual.

A potência do LED IR utilizado no pupilômetro é de 2,5 mW para uma corrente de 20 mA. Considerando-se a distância do LED ao olho do sujeito de 30 mm (Figura 17) e ângulo de abertura do LED de 120°, a energia é distribuída sobre uma circunferência de raio $R = 52 \text{ mm}$ ($R = \tan 60^\circ * 30$). A área total desta circunferência é $A = \pi R^2 = 85 \text{ cm}^2$. Considerando-se, a condição mais desfavorável para o olho, sem que haja perda de potência, tem-se $P = 2,5 \text{ mW} / 85 \text{ cm}^2 = 0,03 \text{ mW/cm}^2$ para uma distância de 30 mm. Sendo a iluminação realizada por 4 LEDs, a potência total é de $P = 0,12 \text{ mW/cm}^2$, com um tempo máximo de exposição ao IR de 660 s (tempo do exame de 11 min). Este valor de potência está dentro da

faixa de segurança estabelecida pelo ICNIRP (ICNIRP, 1997) que é de 10 mW/cm^2 para um tempo maior que 1000 s.

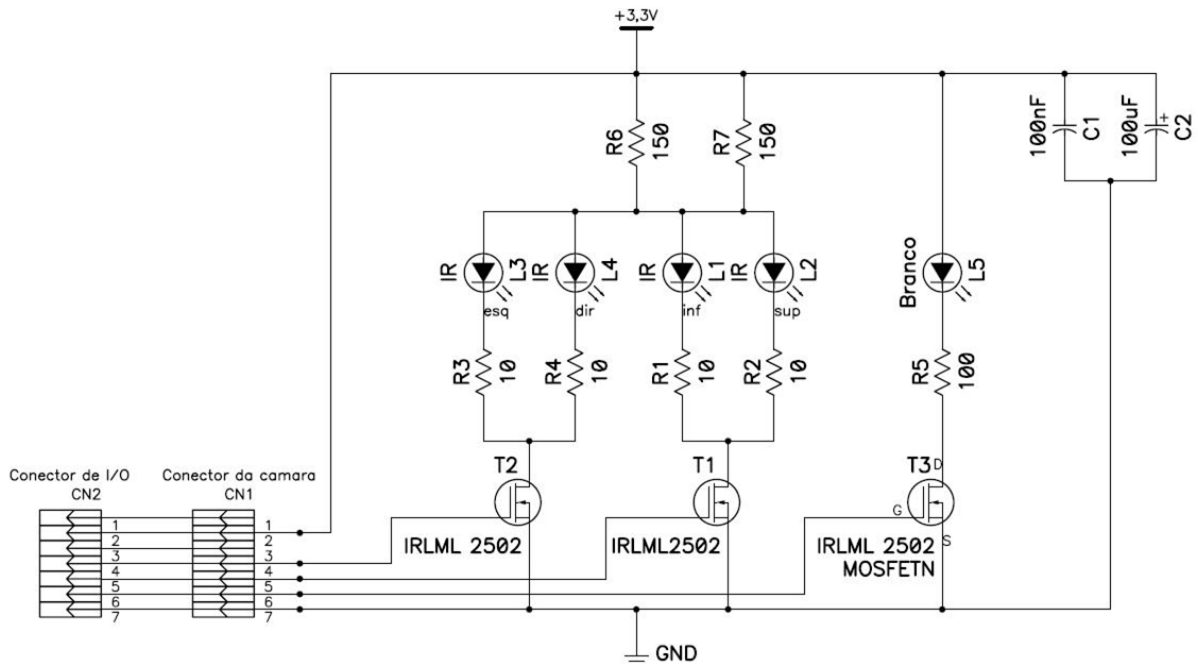


Figura 16 - Circuito de iluminação (L1 - L4) e de estimulação (L5).

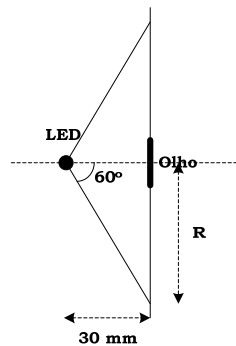


Figura 17 - Geometria formada pela fonte de iluminação e o olho.

3.4.2. Protótipo fixo

Visando ampliar a aplicabilidade da plataforma construída, o protótipo fixo foi projetado utilizando fontes de iluminação e estimulação externas. Além de não limitar o campo de visão, este protótipo pode ser usado tanto em humanos quanto em animais.

Para a captura de imagens, a câmera FireFly MV foi mantida em seu encapsulamento de proteção padrão (24,4 x 44 x 34 mm) que prevê suporte para lentes padrão CS (*cine small*) (Figura 18A). Uma lente com distância focal (5-100 mm) e abertura ajustável também foi

adicionada, com o objetivo de compensar a distância entre o sujeito e a câmera (Figura 18B). Os ajustes desta lente são manuais, pois o *firmware* da câmera FireFlyMV não provê controle automático. Um filtro opcional passa IR (Figura 18C) pode ser inserido entre a câmera e a lente para eliminar possíveis variações de intensidade de luz provenientes do ambiente, que interferem no algoritmo automático de seleção de limiar aplicado na imagem durante o processo de segmentação (Mitelman *et al.*, 2009).

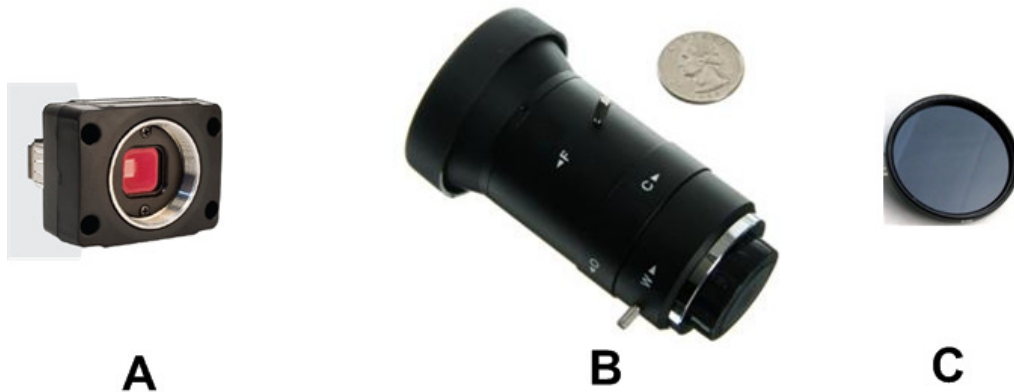


Figura 18 - Componentes do módulo de aquisição de imagens do protótipo fixo.
 (A) Câmera FireFly MV em seu encapsulamento padrão com suporte para adaptação de lente CS. (B) Lente com ajuste manual de foco e abertura. (C) Filtro para isolamento da luz no espectro visível.

Para a iluminação da cena pode-se utilizar a luz ambiente ou uma fonte de luz de infravermelho. Para este protótipo foi disponibilizada uma fonte de iluminação utilizando um circuito de polarização do LED IR (L1 - Figura 19A). Conforme o contexto da aplicação pode ser necessário o acoplamento de um difusor de luz (Figura 19B).

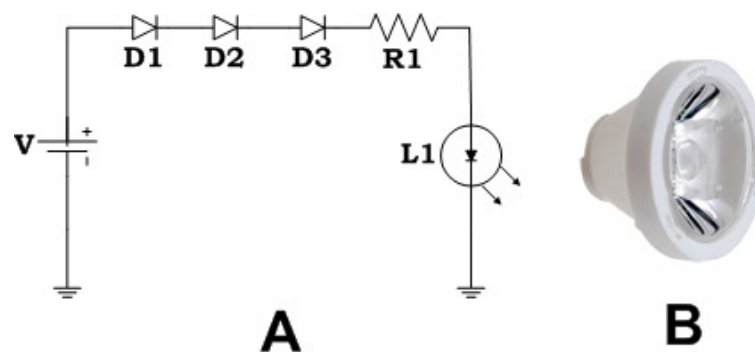


Figura 19 - Módulo de iluminação do protótipo fixo.
 (A) Circuito de iluminação do LED IR (L1) e (B) difusor de luz.

Os componentes utilizados neste módulo são obtidos no mercado de produtos eletrônicos (Tabela 2). O LED IR tem a tensão típica de polarização direta de 1,5V resultando numa corrente de 14 mA para $R1=100\Omega$. Esta corrente foi ajustada para o experimento, cuja

distância do alvo era de 40 cm, entretanto ela pode ser ajustada em função da distância entre câmera e sujeito, respeitando a $I_F = 100 \text{ mA}$ do LED IR. Por questão de praticidade foi utilizada uma fonte de alimentação V(Figura 19A) típica de telefone celular (5V/100mA).

Tabela 2 - Componentes do módulo de iluminação.

Componentes	Descrição
D1,D2,D3	1N4148
R1	100 Ω
L1	VSMG3700 - (Semiconductors, 2010)
V	Fonte de telefone celular ou qualquer fonte com saída regulada de 5V

Devido à flexibilidade de aplicações do protótipo fixo, experimentos com animais também podem ser realizados, entretanto alguns cuidados devem ser tomados. Nos experimentos realizados com coruja buraqueira, que serão descritos no próximo capítulo, foi utilizada uma estrutura para isolamento da luz ambiente (Figura 20A). Uma vez que o software não compensa os movimentos da cabeça do animal experimental, foi utilizado um suporte para fixação da coruja que restringe possíveis movimentos de sua cabeça (Figura 20B). Para a estimulação visual, foi utilizado um monitor de CRT (Tubo de raios catódicos) (Figura 20F). O encapsulamento da câmera (Figura 20D) provê uma conexão para adaptação do suporte de sustentação da mesma, assim como um adaptador padrão CS para colocação da lente (Figura 20C). Já o módulo de iluminação externo (Figura 20E) provê a iluminação da cena.



Figura 20 - (A) Ambiente para execução de coletas pupilométricas com isolamento da luz ambiente. (B) Suporte para fixação da cabeça da coruja para restrição de movimentos. (C) Lente para compensação da distância existente entre câmera e coruja. (D) Câmera em seu encapsulamento original adaptada a suporte de fixação. (E) Módulo de iluminação externo. (F) Gerador de estímulos visuais.

Para experimento em que se deseja obter o tempo de latência, que corresponde ao intervalo entre a estimulação e a respectiva resposta, é necessária a sincronização destes eventos. Para isto, o protótipo utiliza um sinal de *trigger* oriundo do equipamento de estimulação para iniciar o processo de captura de imagens. Entretanto existem características intrínsecas dos dispositivos que são impeditivas para correta interpretação do sinal de *trigger*. Com relação à câmera Firefly MV, embora o nível (alto/baixo) do pulso seja configurável por software, é necessário que sua largura mínima seja de 6 ms para que não haja perda de quadros. Já o dispositivo externo utilizado para estimulação gera pulso de *trigger* com nível lógico alto e com largura fixa de 1 ms (Figura 21 – canal 1). Para compatibilizar tais sinais foi adotada uma solução simples (Figura 22), que não demanda alimentação externa.

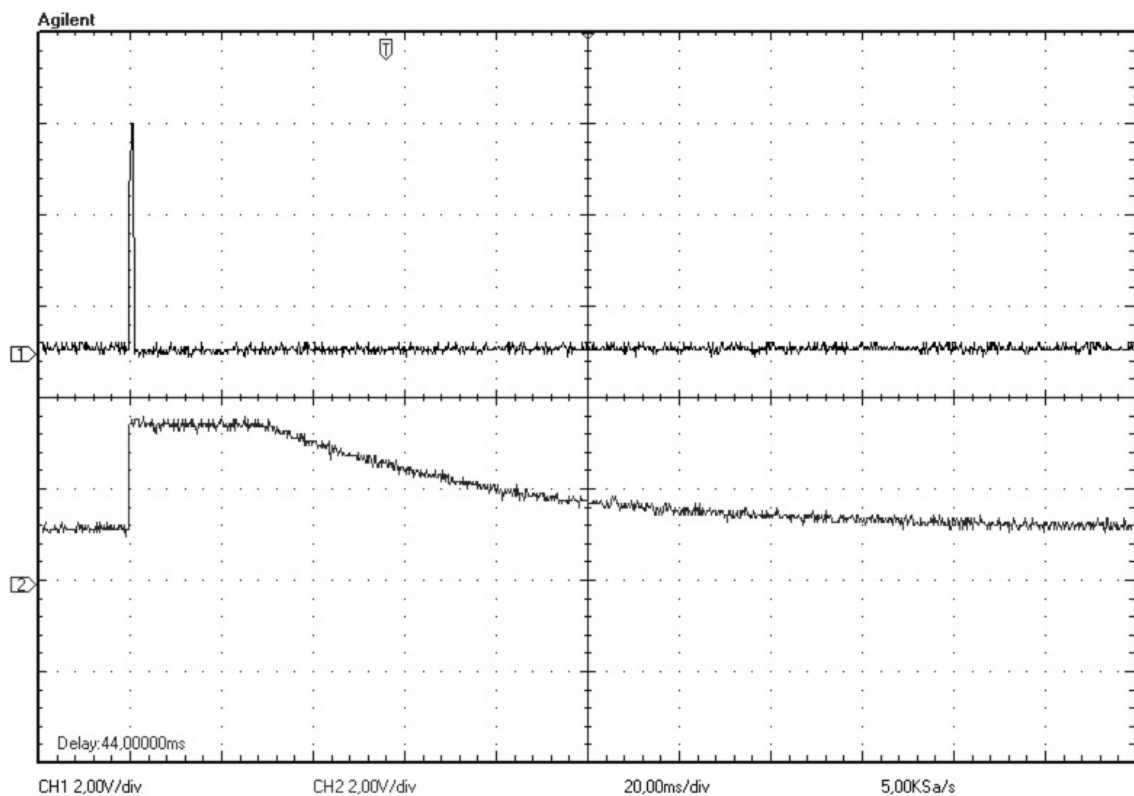


Figura 21 - Sinais de *trigger*.

Sinal original do pulso de *trigger* gerado pelo estimulador visual (canal 1). Sinal estendido pelo circuito de compatibilização do *trigger* (canal 2).

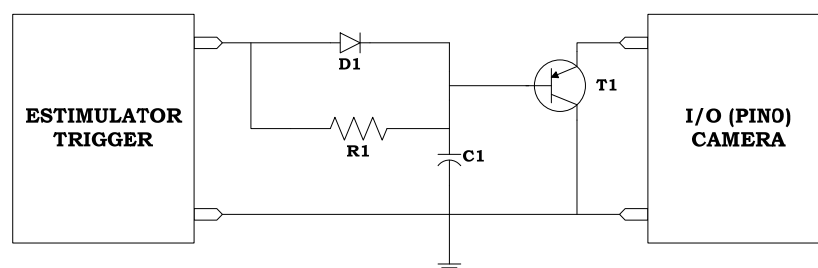


Figura 22 - Circuito para compatibilização do sinal de *trigger*.

Os componentes deste circuito (Tabela 3) também podem ser encontrados no mercado de eletrônica e, devido ao seu reduzido tamanho foi inserido no próprio cabo de conexão do estimulador como câmera.

Tabela 3 - Componentes do circuito de correção de largura de pulso.

Componente	Descrição
D1	1N4148
R1	10K
C1	4,7 μ F
T1	BC327

Para o início do processo de captura de quadros é necessário um único pulso de *trigger*. Com os componentes apresentados na Tabela 3, a largura do pulso gerada pelo circuito ficou muito acima dos 6 ms exigidos pela câmera (Figura 21 – canal 2). Entretanto, esta largura final do pulso pode ser alterada substituindo os valores de R1 e C1.

3.5. Software

O *software* foi desenvolvido e testado no sistema operacional Windows versões XP e Vista (*Microsoft® Corporation, Washington, USA*) utilizando o LabVIEW 8.5, um ambiente de linguagem gráfica de programação de alto nível desenvolvido pela *National Instruments* (www.ni.com, Texas, USA). Também foram utilizadas duas ferramentas de *software* da *National Instruments*: (1) o módulo de desenvolvimento visual 8.5, uma ampla biblioteca de rotinas de processamento de imagem, e (2) o *driver* NI-IMAQdx, que realiza a interface com o barramento IEEE 1394 da câmera. Embora o sistema operacional Windows não ofereça suporte a tempo real, a autonomia do módulo de aquisição com base no padrão IEEE-1394a garante a identificação de quadros perdidos. Esta identificação e a correção de falha de amostragem, assim como processamento de imagem, são realizadas *offline*.

O *software* é constituído por dois módulos independentes que se comunicam por meio de um conjunto de arquivos (Figura 23). O módulo de aquisição de imagem é responsável pelo fornecimento de informações para o sistema, enquanto o módulo de análise da pupila é responsável pela detecção e estimação automática da pupila, pela correção manual das medidas e pela realimentação das informações por meio da inserção de valores estimados de diâmetro da pupila. A comunicação entre os dois módulos de *software* é realizada através de dois arquivos: filme e dados (data e hora da captura, índices de quadros, e *status* dos canais I/O). O filme é gravado no formato AVI (*Audio Video Interleave*) sem compactação. Já os

dados são gravados no formato proprietário TDMS (*Technical Data Management Streaming*) desenvolvido recentemente pela *National Instruments*. Este formato possibilita a gravação em alta velocidade de grandes quantidades de dados em disco rígido (Instruments, 2012).

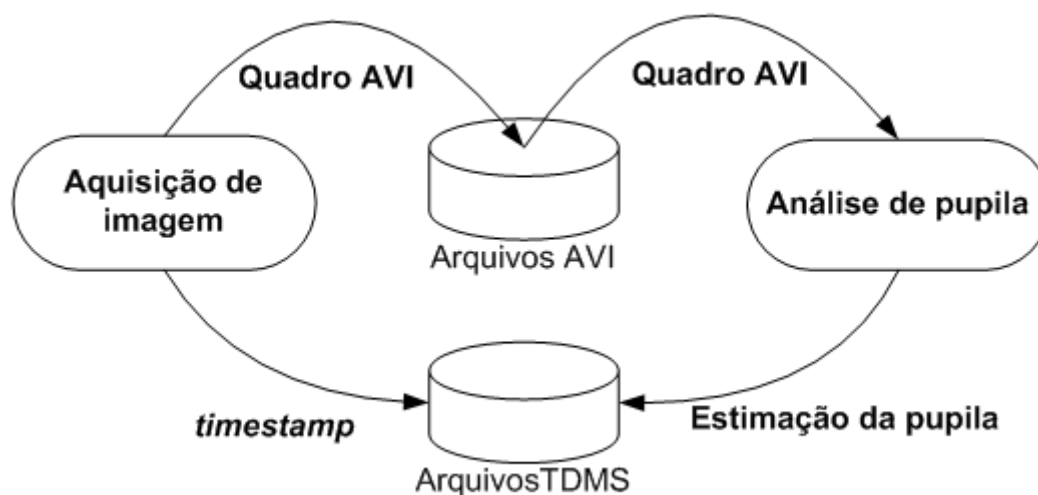


Figura 23 - Diagrama de blocos.

Operações básicas do *software* do sistema, com ênfase na relação particular entre os módulos de aquisição e análise de dados associados ao armazenamento de arquivos.

Embora haja uma autonomia dos dois módulos de *software*, cabe mencionar a existência de uma dependência hierárquica entre eles devido a certo grau de serialização nos procedimentos de captura e processamento de dados.

O sistema de *software* foi projetado em uma estrutura de camadas (Figura 24) que garante um desacoplamento entre as mesmas, tornando mais simples o processo de manutenção do sistema. Sua camada de mais alto nível é responsável pelo gerenciamento do sistema e do interfaceamento com o usuário. Na segunda camada encontram-se os dois módulos autônomos, que são constituídos por submódulos independentes com sua própria interface com o usuário. Esta estrutura modular do *software* permite que um ou mais submódulos sejam alterados, inseridos ou retirados em função das especificidades do experimento. Ela também possibilita a chamada dinâmica de cada submódulo, o que garante sua respectiva alocação de memória somente durante sua execução.

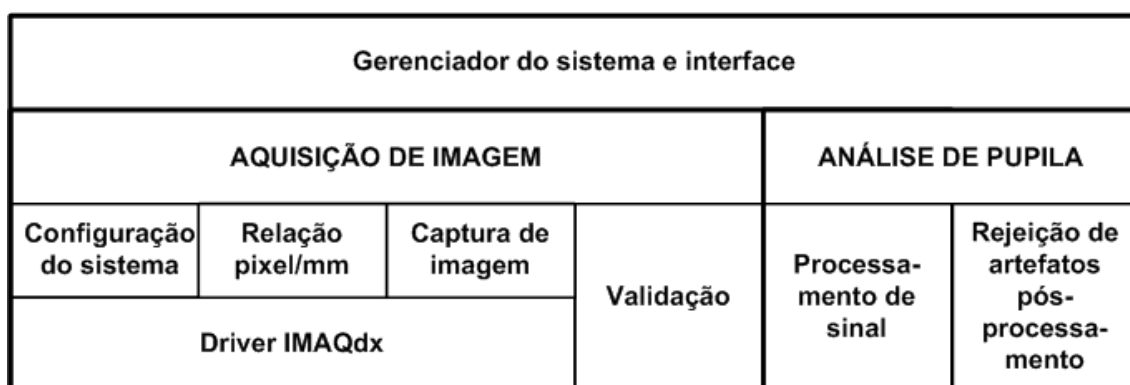


Figura 24 - Arquitetura de software do sistema.

Distribuição em estrutura de camadas sendo a de mais alto nível responsável pelo gerenciamento do sistema e o interfaceamento com o usuário. Na camada inferior encontram-se os módulos independentes e seus respectivos submódulos.

3.5.1. Módulo de aquisição de imagens

O módulo de aquisição de imagens apresenta três submódulos: Configuração do sistema, Relação pixel/mm e Captura de imagem, que são dependentes do *driver* IMAQdx para acessar as funcionalidades da câmera (Figura 24). Estes submódulos só são habilitados no *menu* principal do sistema caso a câmera esteja conectada e funcionando corretamente. Já o submódulo de Validação, apesar de sua independência da câmera, só será habilitado após uma coleta, permitindo que seja realizada a validação do dado coletado.

3.5.1.1. Configuração do sistema

Este submódulo permite a configuração pelo usuário de três modos de vídeo monocromático de 8-bits: (1) 640x480 em 30Hz, (2) 640x480 em 60Hz e (3) 320x240 em 120 Hz. Para cada modo de vídeo, diversas propriedades da imagem, tais como brilho, gama e ganho, foram estabelecidos inicialmente com um valor padrão, por meio de registros da câmera. Entretanto todas essas propriedades são configuráveis.

3.5.1.2. Relação pixel/mm

Este submódulo permite ao usuário definir a relação entre o tamanho da imagem em pixel com seu tamanho em unidade métrica do mundo real, um passo necessário para que seja possível realizar medições do tamanho da pupila em valor absoluto. Para o protótipo fixo, onde o sujeito encontra-se distante da câmera, retira-se uma foto de um objeto de tamanho conhecido (régua, por exemplo) posicionado sobre a plataforma de apoio da cabeça do sujeito. Sobre a imagem do objeto, presente na tela do computador, o usuário seleciona dois pontos,

cuja distância em pixel será utilizada para a conversão métrica de acordo como tamanho do mundo real.

Para o protótipo portátil, devido à dificuldade prática da introdução (e remoção) de um objeto de referência, estando o sujeito com a máscara, a conversão de unidade métrica é realizada colocando sobre a pálpebra um fino padrão, circular e de tamanho conhecido (lantejola de 6 mm de diâmetro - Figura 14). Esta lantejola é fixada sobre a pálpebra que, devido à sua rigidez e concavidade, não necessita de aplicação de produtos adesivos (Figura 13C). Em seguida, inicia-se um processo de captura contínua de imagens, de modo que o *software* detecta a lantejola e estima seu diâmetro em pixels. Este processo é encerrado ao atingir um número de amostras consecutivas cujo desvio padrão das medidas de seu diâmetro esteja dentro da faixa configurada pelo usuário. De acordo com relatos dos sujeitos nos ensaios realizados, ela não causa desconforto e torna-se muito rapidamente imperceptível.

O fornecimento de medidas em valor absoluto ainda é um desafio para sistemas de medição de pupila. Outras informações sobre técnicas para medidas em valores absolutos são encontradas no Apêndice A.5.

Devido à pequena distância focal (3,6mm) da lente e a curta distância entre o olho do sujeito e a lente da câmera no sistema portátil (≈ 30 mm), as imagens são mais susceptíveis à distorção radial da lente (Figura 25A). Um procedimento opcional do módulo de software permite contornar este problema. Baseado em rotinas do NI *Vision Assistant* (NI, 2005), é possível calcular uma matriz de correção da lente e aplicá-la a cada quadro antes do processo de detecção e estimação da pupila (Figura 25B). Mais detalhes sobre as distorções de lentes podem ser encontrados no Apêndice A.6.

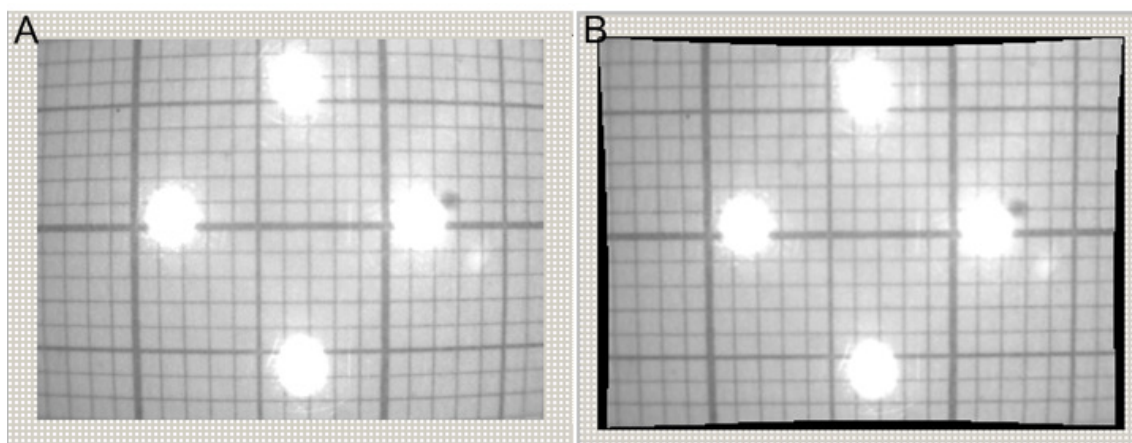


Figura 25 - Correção da distorção radial da lente.

(A) Imagem da montagem de uma placa de acrílico com papel milimetrado ao fundo iluminado por 4 fontes de IR. Foto retirada a 3 cm da câmera para mostrar o efeito da distorção radial. (B) Imagem após correção da distorção radial.

3.5.1.3. Captura de imagem

Dois modos diferentes de aquisição de imagens foram desenvolvidos: gravação de vídeo disparado por evento de *trigger* e gravação de vídeo contínua de longa duração.

Gravação de vídeo disparado por evento de trigger

A máquina de estado finito (MEF), representada na Figura 26A, captura um número de quadros de vídeo que é definido pelo usuário em função do tempo de duração do ensaio, variando de milissegundos a segundos. Neste modo são realizados vários ensaios sequencialmente, sendo o tempo de intervalo entre eles também configurável. Devido ao número relativamente pequeno de quadros adquiridos em cada ensaio, o armazenamento de dados é feito inicialmente na memória principal (RAM), minimizando assim perdas de quadros durante a aquisição. Para aplicar esta abordagem, a quantidade de memória necessária para cada ensaio deve ser definida antes do início da sessão de gravação (**IniciaCaptura**). A detecção de falhas na câmera aborta o processo de aquisição que, por sua vez, libera a memória alocada e finaliza a MEF.

A MEF do ensaio é mostrada na Figura 26B. Inicialmente, o sistema aguarda um *trigger* externo para iniciar a captura de quadros (**Sincronização**). O fim de um ensaio ocorre quando o número total de quadros atribuídos é efetivamente atingido ou quando a duração do ensaio configurado pelo usuário tiver estourado. Ambos os eventos são controlados pelo estado **Temporização**. No estado **Captura** o usuário poderá interromper o ensaio, o que será sinalizado pelo evento **Abortado** e forçará esta MEF para seu fim. Quando o sistema retorna para a MEF da Sessão de gravação (**Gravação de filme**), o *buffer* é esvaziado através da transferência dos quadros gravados em RAM para o disco rígido. Neste momento será avaliada a existência de um novo ensaio e sua respectiva configuração (**Configuração do ensaio**). Na existência de novo ensaio será garantido o tempo entre ensaios, controlado pelo estado **Intervalo entre ensaios**. Caso seja atingido o fim dos ensaios ou haja a perda de sincronismo entre a estimulação e a coleta, o controle da MEF é levado para o estado **Fim** onde é realizado o fechamento da MEF com a gravação do *status* da sessão de gravação.

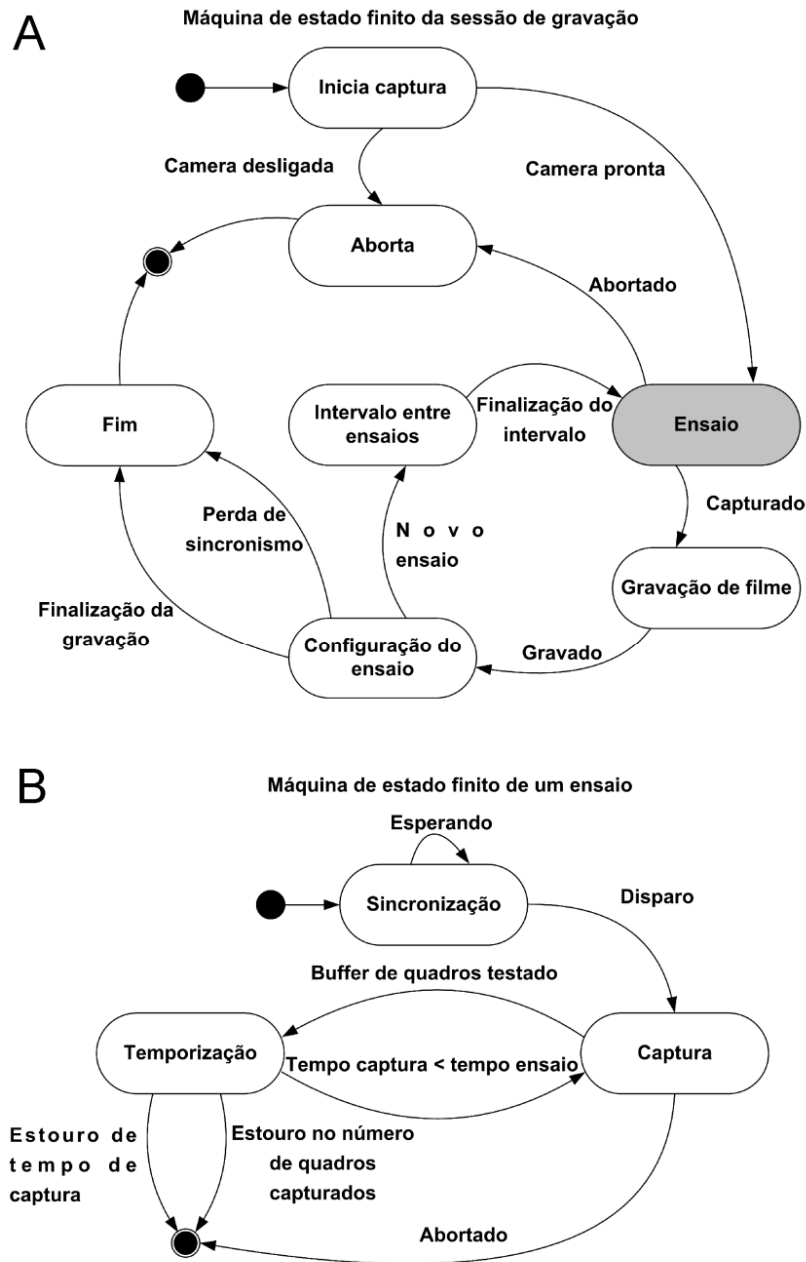


Figura 26 - Máquina de estado finito (MEF) representativa do modo de gravação de vídeo disparado por evento de *trigger*. São mostradas as dependências de transição entre os estados sendo que em (A) é definida toda sessão de gravação e em (B) um único ensaio da sessão. O início de uma MEF é indicado por um círculo cheio e o fim, indicado por este círculo envolvido por uma linha externa.

Gravação de vídeo contínua de longa duração.

Este modo de gravação é controlado pela MEF, cujo diagrama é mostrado na Figura 27. Ela realiza a aquisição/gravação contínua, em teoria, por tanto tempo quanto espaço de disco estiver disponível (tempo mais longo testado: 12 min). Neste caso, usar o *buffer* de dados de imagem na memória RAM é impossível devido ao grande volume de quadros para ser armazenado. Em vez disso, a operação de escrita em disco é executada quadro-a-quadro.

Um problema desta abordagem é que o sistema é mais suscetível à perda de quadros devido à velocidade de escrita em disco. O estado **Inicia captura** inicializa os diferentes parâmetros da gravação como o início e fim do estímulo (LED). Caso a câmera não esteja operando corretamente a gravação é abortada. A apresentação de estímulos durante uma gravação assim como o encerramento da gravação são controlados pelo estado **Configuração de evento de estimulação** de coleta. A apresentação de estímulo durante a gravação é opcional, sendo comum em gravações para ensaios de Reflexo pupilar à luz (RPL). O estado **EsperaQuadro**, além de indicar o fim de uma etapa de estimulação ao longo da gravação, também controla a recepção de novo quadro e monitora uma possível interrupção da gravação pelo usuário. Para cada novo quadro capturado é atualizado um ponteiro relativo ao *buffer* interno do *driver* da câmera. Já o estado **GravaQuadro** é responsável pela gravação em disco de cada quadro retirado do respectivo *buffer*. Neste estado, também são extraídas da imagem as informações de *timestamp* e *I/O*, com armazenamento nos respectivos vetores.

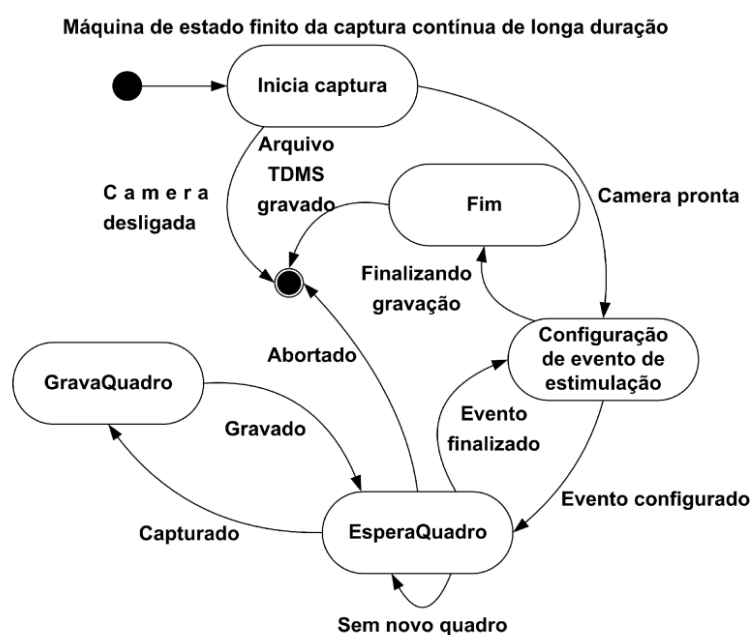


Figura 27 - Máquina de estado finito (MEF) para o modo de gravação contínua de longa duração.

As informações sobre *timestamp*, índice do quadro e dados do sujeito são armazenados no final da sessão. Um inconveniente deste modo de gravação é que o tempo de sua duração se baseia no relógio do sistema operacional, o que significa que pequenos atrasos cumulativos de duração de gravação podem ser introduzidos dependendo da prioridade atribuída pelo sistema operacional a este processo.

3.5.1.4. Validação do ensaio

O submódulo de validação permite validar a coleta realizada com base na informação de quadros perdidos no filme gravado. Sua principal função é viabilizar uma triagem da coleta evitando que o filme seja submetido à etapa de processamento de imagens. Esta etapa constitui a tarefa computacionalmente mais lenta do sistema, pois necessita detectar e estimar os parâmetros de pupila em um grande volume de imagens. A validação do ensaio é realizada neste submódulo com base em três variáveis: a taxa de aquisição, o número total de perda de quadro e a maior falha consecutiva. A taxa de aquisição, calculada de acordo com o número total de quadros dividida pela duração do tempo de aquisição, permite verificar se a taxa nominal configurada para o ensaio foi alcançada. O número total de quadros perdidos, avaliado em conjunto com a maior falha consecutiva, é um importante indicador para decidir sobre a possibilidade de recuperação das amostras perdidas. Essas duas últimas variáveis são obtidas a partir da informação do *timestamp* presente nos quadros capturados. Para obtê-las basta calcular a diferença entre os *timestamps* de dois quadros consecutivos e dividir pelo período de amostragem configurado. Caso o resultado desta operação seja igual a 1 caracteriza a inexistência de perda entre quadros. Vale ressaltar que, além de comprometer a análise da pupila, erros no processo de recuperação podem potencialmente conduzir a perda de eventos significativos, como o piscamento.

3.5.2. Módulo de análise de pupila

A extração de parâmetros da pupila é *offline*. A detecção da borda da pupila pertence a uma classe típica de problemas no contexto de processamento de imagem que é a detecção de círculos. Este problema é recorrente, pois é utilizado numa gama de aplicações no universo de visão computacional, tais como: identificação de moedas (Chen *and* Chung, 2001), imagens biológicas (Rad *et al.*, 2003), produção industrial (Zhang *et al.*, 2006), esportes (D’orazio *et al.*, 2009), dentre outras. Já para estimação da pupila existem várias técnicas de processamento de imagem, que vão desde métodos essencialmente heurísticos até algoritmos baseados em modelos matemáticos (De Santis *and* Iacoviello, 2006). A solução adotada neste trabalho não envolve a construção de algoritmos genuinamente novos, mas sim a aplicação de técnicas conhecidas de processamento de imagem utilizadas para este tipo de problema, tais como operações morfológicas e detecção de bordas. O objetivo é balancear velocidade de processamento e robustez da estimativa que, mesmo sendo um processamento *offline*, pode tornar o processo de estimação extremamente lento. Obviamente, o sucesso dessa abordagem

depende da qualidade da imagem capturada. O algoritmo de estimação do diâmetro da pupila aplicado neste estudo assume que sua forma geométrica é circular. Uma informação *a priori* sobre a gama de tamanhos de pupila para cada categoria de olho tratada neste trabalho também foi usado no procedimento.

3.5.2.1. Processamento de sinal

O processamento de sinal avalia todos os quadros do filme fornecendo as curvas de diâmetro de pupila, seu centro e a abertura da pálpebra. Para quadros onde o sistema não obtém sucesso na estimação, ele atribui valor zero ao diâmetro. A informação de abertura da pálpebra é importante durante o piscamento ou situações de oclusão parcial da pupila, pois a área calculada da pupila com base no raio estimado diverge da área efetivamente exposta.

A utilização de uma fonte de iluminação IR auxilia no processo de segmentação da pupila devido à forte resposta da íris ao IR. Em Rovani (2006) é apresentada uma revisão bibliográfica sobre os métodos de localização da íris, que é uma extensão da localização da pupila. Diversos são os algoritmos para detecção da pupila, entretanto eles apresentam desempenhos diferenciados dependendo da aplicação. O mesmo se aplica para as técnicas utilizadas no desenvolvimento deste algoritmo. O processamento dos quadros é realizado por meio das etapas de segmentação e estimação, constituídas de uma série de subetapas de otimização do processamento. Estas subetapas poderão ser suprimidas ou alteradas em função das especificidades do tipo de olho avaliado, tais como: a membrana nictitante e fechamento da pálpebra inferior, característicos da coruja buraqueira, que são inexistentes no olho humano. Também para casos em que somente o número de piscamento se faz necessário, o processamento pode ser reduzido utilizando apenas a etapa de segmentação ou substituído por algoritmos específicos para detecção de piscamento, que são mais rápidos do que os algoritmos de estimação de pupila.

Segmentação da pupila

A segmentação tem como função subdividir a imagem em suas partes ou objetos constituintes (Gonzalez *and* Woods, 1992). No caso específico do algoritmo utilizado, busca-se isolar a pupila das demais áreas da imagem, o que viabiliza as medidas pupilométricas no processo de estimação. Na Figura 28 são apresentadas as etapas de segmentação e seus respectivos resultados, com exemplos para processamento do olho humano e da coruja buraqueira, com a finalidade de mostrar que os mesmos fundamentos dos algoritmos de

processamento de imagem são utilizados para casos distintos. Vale ressaltar que algumas mudanças nos algoritmos se fazem necessárias para atender as especificidades de cada caso e que serão apresentadas no momento oportuno.

A segmentação começa com a leitura de um quadro do arquivo AVI. Com a finalidade de aumentar a velocidade de processamento, o tamanho de cada imagem de entrada (Figura 28A) é reduzido a uma região retangular de interesse (ROI, Figura 28B), definida em função do centro da pupila e do raio obtido no quadro anterior. A aplicação da ROI é realizada automaticamente na imagem atual e o cálculo na nova ROI é realizado dinamicamente a cada nova estimacão de centro e de raio. Nesse processamento se assume que a imagem de entrada contém apenas um olho, bem como pelo menos uma porção da pupila exposta. Vale ressaltar que a ROI não é aplicada quando as informações de centro e de raio da pupila do quadro anterior são desconhecidas. A região retangular da ROI é obtida somando-se as coordenadas do centro da pupila o tamanho do raio e um deslocamento de 15 pixels nos sentidos direita/esquerda e inferior/superior. Essa abordagem só é possível devido à quase inexistência de movimento do globo ocular da coruja. Já para o algoritmo do olho humano, devido à maior mobilidade do globo ocular, foi estabelecido um deslocamento maior (± 30 pixels).

A etapa de remoção de ruídos (Figura 28C) tem como objetivo a eliminacão dos pixels de baixa intensidade, tipicamente presentes nos vértices do quadro, que interferem no cálculo do centróide na etapa de estimacão. Para tanto, aplica-se um círculo/elipse sobre a imagem resultante da aplicacão da ROI (Figura 28B) e fazendo com que todos os pixels da região externa ao círculo/elipse assumam o nível de cinza 255 (branco) (Figura 28C). O círculo/elipse é construído aplicando-se a função IMAQ Draw do NI Vision.

O próximo passo no processamento é a limiarizacão, que constitui uma das abordagens mais importantes na segmentacão de imagem (Gonzalez *and* Woods, 1992). Para a obtenção do limiar existem diversas técnicas propostas que buscam estabelecer o limiar ótimo (Batenburg *and* Sijbers, 2007) e, em alguns casos, dando ênfase à velocidade da busca (Rhee *and* Shin, 2003). No presente estudo, foi aplicado o histograma de escala cinza (Figura 28D) para analisar a distribuicão de intensidade do pixel na imagem resultante. Esta abordagem baseia-se na forte resposta da íris para a iluminacão IR, o que cria um histograma peculiar, cujo primeiro pico corresponde em grande parte a pupila (pixels de baixa intensidade). Um filtro de média móvel ($n = 7$) é aplicado sobre o histograma para suavizacão da curva. A derivada do histograma é então calculada (Figura 28E), gerando uma curva típica

com um máximo (pico positivo) e um mínimo (pico negativo) para cada pico de histograma (Figura 28D).

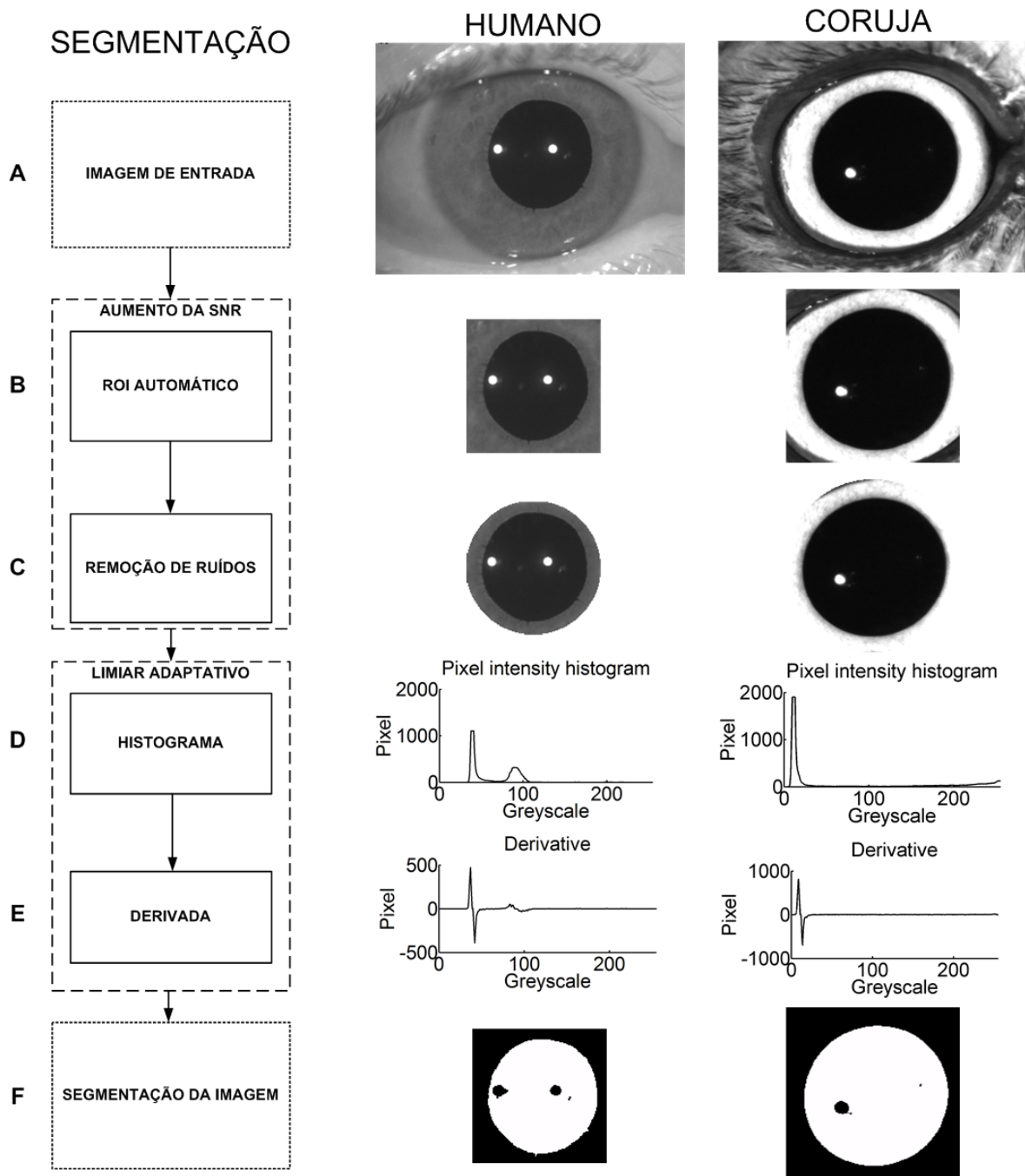


Figura 28 - Fluxograma do algoritmo de segmentação da pupila.

Para cada imagem capturada (A), os procedimentos de ROI centralizado na pupila estimada no quadro anterior (B) e a eliminação das arestas da imagem cortando a imagem resultante da ROI em uma forma circular (C) aumentam a relação sinal-ruído. Em seguida, calcula-se o histograma baseado na intensidade do nível de cinza dos pixels restantes (D) e determina-se o limiar de segmentação da pupila correspondendo à segunda passagem pelo zero na curva da derivada do histograma (E). O limiar obtido é utilizado para segmentar a imagem (F). Exemplos de resultados das etapas são mostrados do lado direito dos respectivos blocos de processamento.

O limiar de segmentação da pupila é obtido por meio da detecção da segunda passagem pelo zero da curva da derivada (no exemplo mostrado na Figura 28E, este valor é

igual a 48). Imagens binárias são então obtidas configurando todos os pixels abaixo do limiar para um, e os pixels restantes para zero (Figura 28F). Vale ressaltar que o comportamento da curva do histograma aplica-se tanto para o olho da coruja buraqueira como para o olho humano.

Estimação do centro e raio da pupila

Para a estimativa robusta do centro e do diâmetro da pupila foram implementados dois algoritmos independentes, porém complementares. O primeiro é aplicado sobre as imagens binárias obtidas na etapa de segmentação (Figura 30A, mesmo que a Figura 28F) e tem como objetivo estimar o centróide e o raio da pupila. Em geometria, o centróide é o ponto no interior de uma forma geométrica que define o seu centro geométrico. Quando um objeto apresenta densidade uniforme, o centróide coincide com o centro de massa. Esta propriedade se aplica para imagem binarizada, pois os pixels com nível lógico alto apresentam o mesmo peso. Dessa forma, o centróide da imagem é o ponto da figura na qual as coordenadas são as médias de todas as coordenadas dos pixels do objeto de interesse (Nicolliello, 2007). Nem sempre o centróide pertence ao objeto, como é mostrado na Figura 29.

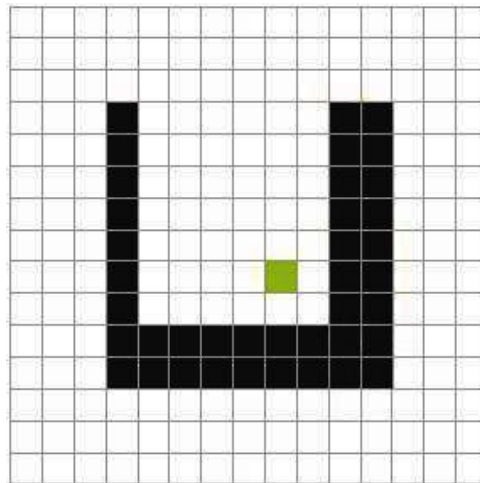


Figura 29 – O ponto em destaque não coincidente com os pontos do objeto ilustra um caso em que o centróide do objeto não pertence ao próprio objeto.

Fonte: adaptado de Nicolliello (2007)

A coordenada do centróide (C_x, C_y) pode ser obtida por meio das seguintes equações:

$$C_x = \frac{\sum_{j=1}^J \sum_{k=1}^K j I(j, k)}{\sum_{j=1}^J \sum_{k=1}^K I(j, k)}$$

$$C_y = \frac{\sum_{j=1}^J \sum_{k=1}^K k I(j, k)}{\sum_{j=1}^J \sum_{k=1}^K I(j, k)}$$

Onde: $I(j,k)$ é o valor do pixel na posição x,y da imagem.

No caso da pupila, em que sua forma foi assumida como circular, espera-se que o centróide encontrado seja próximo do seu centro. Em estudo realizado com um banco de dados de imagens do olho, foi mostrado que o centróide e centro real das pupilas estão distantes na média de 5 pixels (Rovani, 2006). No presente trabalho, o algoritmo implementado para a obtenção do centróide baseia-se no algoritmo utilizado por Rovani.

Para o cálculo do centróide, é necessário submeter a imagem ao processo de segmentação. Entretanto, muitas vezes, ela contém pixels espúrios, fora da área da pupila, que são gerados por artefatos como: condições não uniformes de iluminação, cílios e sombras. Para remover esses pixels espúrios, uma operação morfológica conhecida como erosão (Gonzalez *and* Woods, 1992) é aplicada. Dentro da área da pupila, o ruído é caracterizado por manchas pretas causadas pela iluminação IR. Para removê-lo, outra operação morfológica conhecida como dilatação (Gonzalez *and* Woods, 1992) é aplicado. Com a aplicação dessas duas operações morfológicas (Figura 30B), estimativas mais precisas do centróide e do raio da pupila podem ser obtidas (Figura 30C). Entretanto o procedimento adotado nessas estimativas torna-se vulnerável, especialmente quando a pupila é parcialmente obstruída pelos cílios e pela pálpebra, gerando assim valores inadequados de centro e raio. Ainda assim, eles são utilizados como parâmetros de entrada para um algoritmo mais robusto para determinação do diâmetro e centro da pupila.

Um segundo procedimento é aplicado à imagem original capturada após a aplicação da ROI (Figura 30D). Com o filtro de Canny (1986) são destacadas as bordas presentes da imagem em escala de cinza (Figura 30E). Pixels ruidosos circunscritos pela borda da pupila são removidos pela aplicação da operação lógica AND entre as imagens resultantes das etapas apresentadas nas figuras 30C e 30E. Entretanto, antes desta operação a imagem da Figura 30C passa por uma operação de erosão (3X) que reduz a região relativa à pupila, evitando desta forma que a borda da pupila mostrada na Figura 30E seja corrompida pela operação AND. Já a imagem da Figura 30E passa primeiramente pela operação de inversão. Como pode ser visto na Figura 30F, o resultado final é uma borda de pupila bem delineada com a região interior sem ruídos.

A estimação precisa do diâmetro é um problema típico de detecção de círculo na imagem tratada em visão computacional. Este processo pode ser realizado por algoritmos que se baseiam na transformada de Hough como *Circle Hough Transform* (CHT) (Duda and Hart, 1972) ou de suas derivações como *Fast Circle Detection* (Sun, 2003) e *Randomized Hough Transform* (RHT) (Xu *et al.*, 1990). Na RHT, após a detecção de bordas, são selecionados aleatoriamente 3 pontos nas respectivas bordas. Estes pontos poderão pertencer a uma circunferência desde que sejam não colineares. As técnicas derivadas da transformada de Hough buscam reduzir o tempo de processamento e o volume de memória em relação à CHT. Entretanto, devido ao volume de quadros gerados pela pupilometria dinâmica ($600 \text{ s} * 120 \text{ FPS} = 72.000$) foi utilizado um algoritmo fundamentado no *Randomize Circle Detect* (RCD)(Chen and Chung, 2001). O RCD associado à estimação inicial do centro e do raio é mais rápido na detecção de círculos.

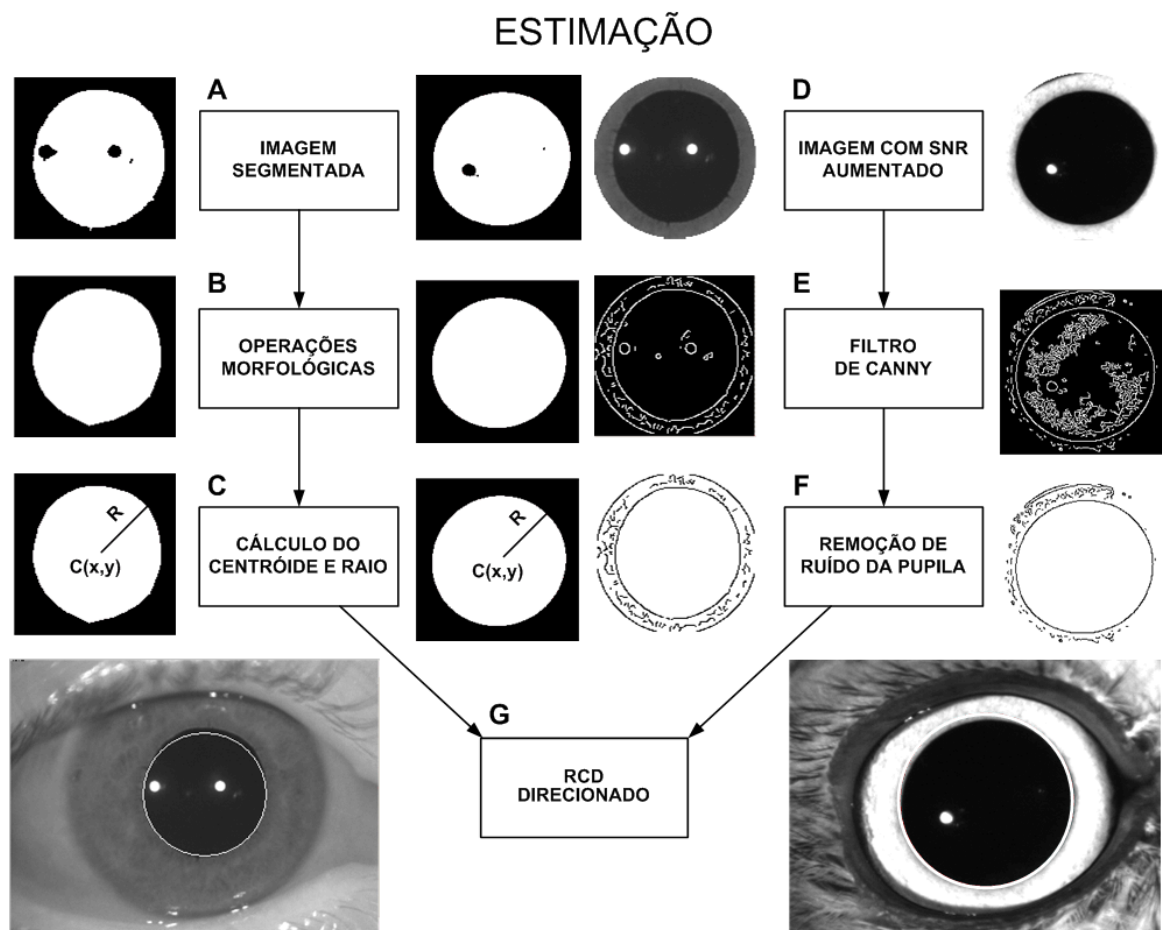


Figura 30 - Fluxograma do algoritmo de estimação da pupila.

Subdivide-se em dois algoritmos simultâneos: (A-C) estima o centróide e o raio da pupila a partir de imagens binarizadas obtidas no final do processo de segmentação; (D-F) gera um mapa de bordas de cada imagem obtida após o aumento da relação sinal-ruído durante o processo de segmentação. (G) Os resultados de ambos os algoritmos concorrentes servem como dados de entrada para selecionar o melhor encaixe pupila-círculo, utilizando uma versão modificada do algoritmo *Randomize Circle Detect* (RCD) (ver texto para mais detalhes). Exemplos de resultados das etapas são mostrados do lado direito dos respectivos blocos de processamento.

Após o processo de detecção de bordas, o RCD gera um vetor P, com quatro pontos, obtidos aleatoriamente nas bordas detectadas. Com os três primeiros pontos do vetor P verifica-se a formação da circunferência:

$$(x - a)^2 + (y - b)^2 = r^2 \quad (1)$$

Reescrevendo a equação (1) obtém-se:

$$2xa + 2yb + d = x^2 + y^2 \quad (2)$$

$$\text{onde } d = r^2 - a^2 - b^2.$$

Considerando-se os 3 pontos, $p_i = (x_i, y_i)$, $i=1,2,3$, não colineares e pertencentes às bordas da imagem, eles poderão formar uma circunferência com centro (a_{123}, b_{123}) e raio r_{123} , cujos valores podem ser obtidos do sistema de equações que se baseia na equação (2):

$$2x_1 a_{123} + 2y_1 b_{123} + d_{123} = x_1^2 + y_1^2$$

$$2x_2 a_{123} + 2y_2 b_{123} + d_{123} = x_2^2 + y_2^2$$

$$2x_3 a_{123} + 2y_3 b_{123} + d_{123} = x_3^2 + y_3^2$$

$$\text{Onde } d_{123} = r_{123}^2 - a_{123}^2 - b_{123}^2$$

A representação deste sistema de equações em forma de matriz é:

$$\begin{pmatrix} 2x_1 & 2y_1 & 1 \\ 2x_2 & 2y_2 & 1 \\ 2x_3 & 2y_3 & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} a_{123} \\ b_{123} \\ d_{123} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} x_1^2 + y_1^2 \\ x_2^2 + y_2^2 \\ x_3^2 + y_3^2 \end{pmatrix}$$

Aplicando a eliminação Gaussiana, tem-se:

$$\begin{pmatrix} 2x_1 & 2y_1 & 1 \\ 2(x_2 - x_1) & 2(y_2 - y_1) & 0 \\ 2(x_3 - x_1) & 2(y_3 - y_1) & 0 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} a_{123} \\ b_{123} \\ d_{123} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} x_1^2 + y_1^2 \\ x_2^2 + y_2^2 - (x_1^2 + y_1^2) \\ x_3^2 + y_3^2 - (x_1^2 + y_1^2) \end{pmatrix}$$

Se p_1, p_2 e p_3 são não colineares, então:

$$(x_2 - x_1)(y_3 - y_1) - (x_3 - x_1)(y_2 - y_1) \neq 0.$$

Pela regra de Cramer, o centro (a_{123}, b_{123}) pode ser obtido por:

$$a_{123} = \frac{\begin{vmatrix} x_2^2 + y_2^2 - (x_1^2 + y_1^2) & 2(y_2 - y_1) \\ x_3^2 + y_3^2 - (x_1^2 + y_1^2) & 2(y_3 - y_1) \end{vmatrix}}{4((x_2 - x_1)(y_3 - y_1) - (x_3 - x_1)(y_2 - y_1))}$$

$$b_{123} = \frac{\left| \begin{array}{l} 2(x_2 - x_1) \quad (x_2^2 + y_2^2) - (x_1^2 + y_1^2) \\ 2(x_3 - x_1) \quad (x_3^2 + y_3^2) - (x_1^2 + y_1^2) \end{array} \right|}{4((x_2 - x_1)(y_3 - y_1) - (x_3 - x_1)(y_2 - y_1))}$$

Com o valor de centro (a_{123}, b_{123}) , obtém-se o raio:

$$r_{123} = \sqrt{(x_1 - a_{123})^2 + (y_1 - b_{123})^2}$$

Com os valores de centro e de raio, aplica-se a equação da distância Euclidiana (3) entre o quarto ponto e a borda do círculo C_{123} .

$$d_{4 \rightarrow 123} = \left| \sqrt{(x_4 - a_{123})^2 + (y_4 - b_{123})^2} - r_{123} \right| \quad (3)$$

Teoricamente p_4 pertencerá à circunferência caso a distância seja zero, mas na prática é próxima de zero, pois a largura da borda da pupila, obtida nas imagens do pupilômetro desenvolvido, varia em algumas unidades de pixel (1 a 3). A validação do ponto p_4 é definida pela máxima largura de borda permitida pelo algoritmo.

A aplicação do RCD, que se caracteriza pela busca aleatória de círculos na imagem, demanda um tempo de processamento elevado. Visando contornar esse problema, o algoritmo elaborado para este estudo adota uma abordagem que direciona a detecção de círculo, minimizando a demanda de tempo da busca aleatória. Este direcionamento se vale da estimativa inicial do centro e do raio obtida na etapa de segmentação, limitando assim a região de busca dos pontos que compõem o vetor P. Essa busca direcionada, ilustrada na Figura 31, parte do centro estimado e caminha no eixo Y em direção à borda da pupila, onde são obtidos os pontos p_1 e p_3 . O mesmo procedimento é aplicado ao eixo X, sendo obtidos os pontos p_2 e p_4 .

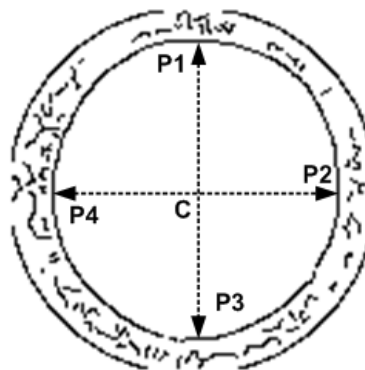


Figura 31 - Busca direcionada de vetor candidato para dimensionamento da pupila. A busca do vetor é realizada na imagem resultante das etapas de cálculo de centróide e de raio (Figura 30C) e remoção de ruído da pupila (Figura 30F).

Entretanto, este procedimento falha em situações onde ocorre oclusão devido ao fechamento parcial da pálpebra (Figura 32A) e ao fechamento da membrana nictitante (Figura 32C), pois as bordas das respectivas pupilas (figuras 32B e 32D) são corrompidas. Nestes dois casos a borda superior da pupila na Figura 32B e a borda inferior da pupila na Figura 32D são preservadas. Nesses exemplos, foi utilizado o olho da coruja buraqueira, pois o mesmo apresenta tipos distintos de oclusão, o que não ocorre no olho humano. Entretanto a solução apresentada a seguir, para tratar tais situações na coruja, também atende às oclusões que ocorrem no olho humano.

Buscando minimizar os problemas de oclusão, foram criados vetores opcionais que permitem a estimação da pupila mesmo em situações como as apresentadas. Esta solução utiliza 5 vetores como possíveis representantes da pupila (vetores candidatos). Para cada vetor é atribuído um escore que é determinado pela respectiva distância $d_{4->123}$, conforme apresentado no algoritmo RCD (equação 3). O vetor escolhido é aquele que apresenta o menor valor $d_{4->123}$. Para situações em que mais de um vetor apresente o mesmo valor $d_{4->123}$, é escolhido aquele cuja respectiva área determinada por seu círculo apresente a menor diferença em relação à área obtida após a binarização e as filtragens morfológicas (Figura 30C). Embora o algoritmo de busca considere a geometria circular para a representação da pupila, outros trabalhos apontam a geometria elíptica como a que melhor corresponde à sua representação (Rad *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2005).

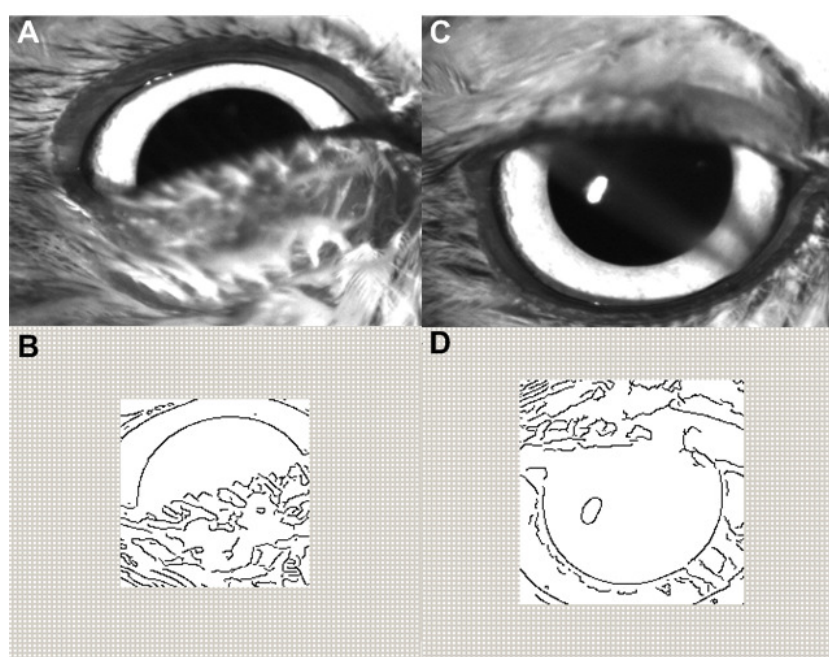


Figura 32 – Oclusões no olho da coruja buraqueira.

(A) O fechamento da pálpebra inferior preserva apenas a borda superior da pupila (B) Imagem após aplicação do filtro de Canny. (C) O movimento da membrana nictitante preserva apenas a borda inferior da pupila (D) Imagem após aplicação do filtro de Canny.

Para a determinação dos pontos que compõem os vetores candidatos são definidos 12 pontos na circunferência, distribuídos com deslocamento de 30° entre eles (Figura 33A). Com esses pontos foram criados cinco vetores denominados: Central (Figura 33B), Lateral (Figura 33C) e diagonais Esquerda (Figura 33D), Superior (Figura 33E) e Inferior (Figura 33F). Vale ressaltar que a escolha dos pontos para composição dos vetores candidatos é crítica, pois quanto mais próximos os pontos entre si, mais suscetível a erro é a detecção da circunferência.

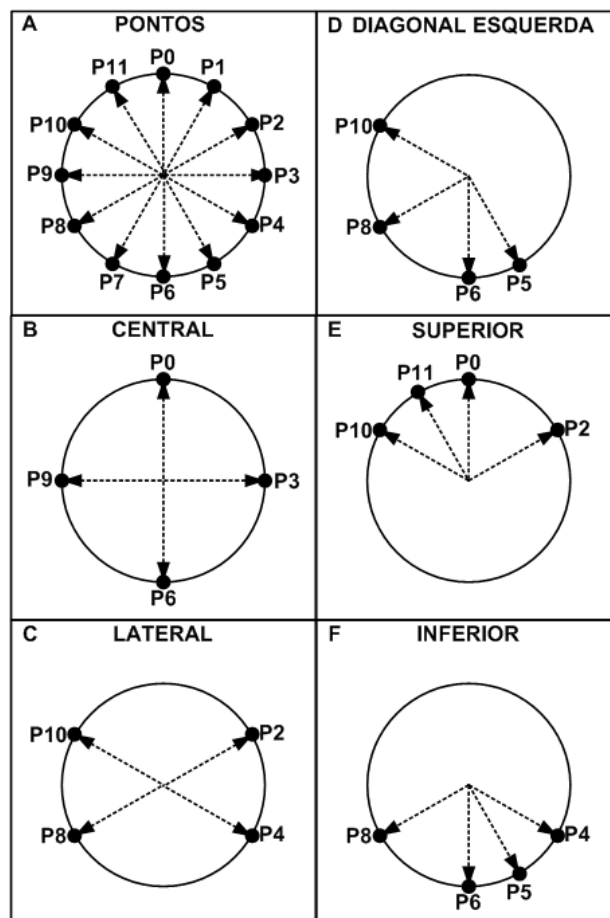


Figura 33 – (A) Divisão do círculo em 12 pontos equidistantes que compõem os vetores candidatos. Vetores selecionados que mais se adequam à representação de pupila em situações sem e com oclusão. A denominação dos vetores busca representar a localização dos pontos no círculo: (B) Central, (C) Lateral, (D) Diagonal Esquerda, (E) Diagonal Superior e (F) Diagonal Inferior. Estes vetores se aplicam tanto para olho humano como para olho de coruja.

Exemplos de estimações para olho humano e da coruja buraqueira, obtidos com os algoritmos descritos, podem ser vistos nas figuras 34 e 35. Nessas figuras, 34A e 35A correspondem às imagens originais (variados graus de abertura/oclusão do olho) com as respectivas sobreposições de estimação pupilar. Já as figuras 34B e 35B mostram os respectivos resultados do processo de segmentação, enquanto as figuras 34C e 35C ilustram os processos

de busca direcionada dos 12 pontos (Figura 30G) que servem de base na composição dos vetores candidatos. As designações dadas às colunas das figuras 34 e 35 informam qual(is) vetor(es) candidato(s) melhor se adequa(m) ao processo de estimação da pupila. Dentre os 5 vetores que podem ser aplicados no processo de estimação da pupila, os vetores candidatos Central (Figura 33B) e Lateral (Figura 33C) são os que melhor correspondem a pupilas sem oclusão (coluna Central/Lateral - Figura 34 e Figura 35). Já para pupilas com oclusões simultâneas nas bordas superior e inferior, a melhor representação é obtida com o vetor candidato Lateral (coluna Lateral - Figura 34 e Figura 35). Os demais vetores são aplicados onde a oclusão ocorre somente na borda superior ou inferior (coluna - Inferior/Diagonal Esquerda Figura 34 e Inferior/Diagonal Esquerda, Superior e Inferior Figura 35). Vale destacar que a situação apresentada na coluna denominada Superior na Figura 35 é típica de coruja buraqueira, uma vez que movimento palpebral em humanos se restringe à pálpebra superior, enquanto que na coruja pode ocorrer movimento palpebral inferior também.

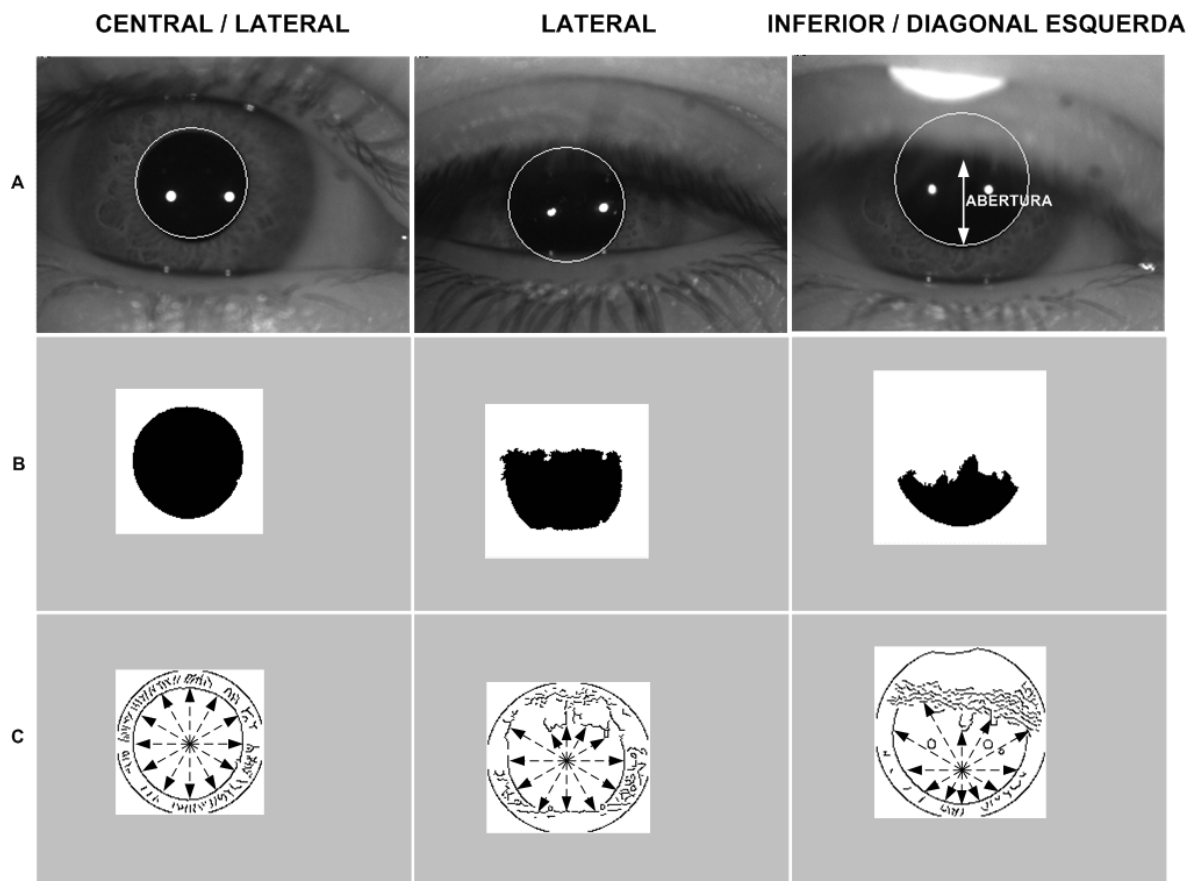


Figura 34 - Exemplos de estimação para olho humano.

(A) Três imagens originais com as respectivas sobreposições de estimções. (B) Resultados do processo de segmentação em cada caso. (C) Ilustração dos processos de busca direcionada dos 12 pontos que servem de base na composição dos vetores candidatos. As designações das colunas informam qual(is) vetor(es) melhor se adequa(m) ao processo de estimação da pupila.

Além das estimações de pupila, o algoritmo fornece a medida adicional de abertura de pálpebra (coluna Inferior/Diagonal esquerda na Figura 34 – e coluna Inferior na Figura 35) tomando-se como referência a borda inferior da pupila. Essa medida pode ser utilizada para informar o nível de exposição à luz da pupila, uma vez que o sistema fornece o diâmetro total da pupila mesmo quando ocorre a oclusão parcial.

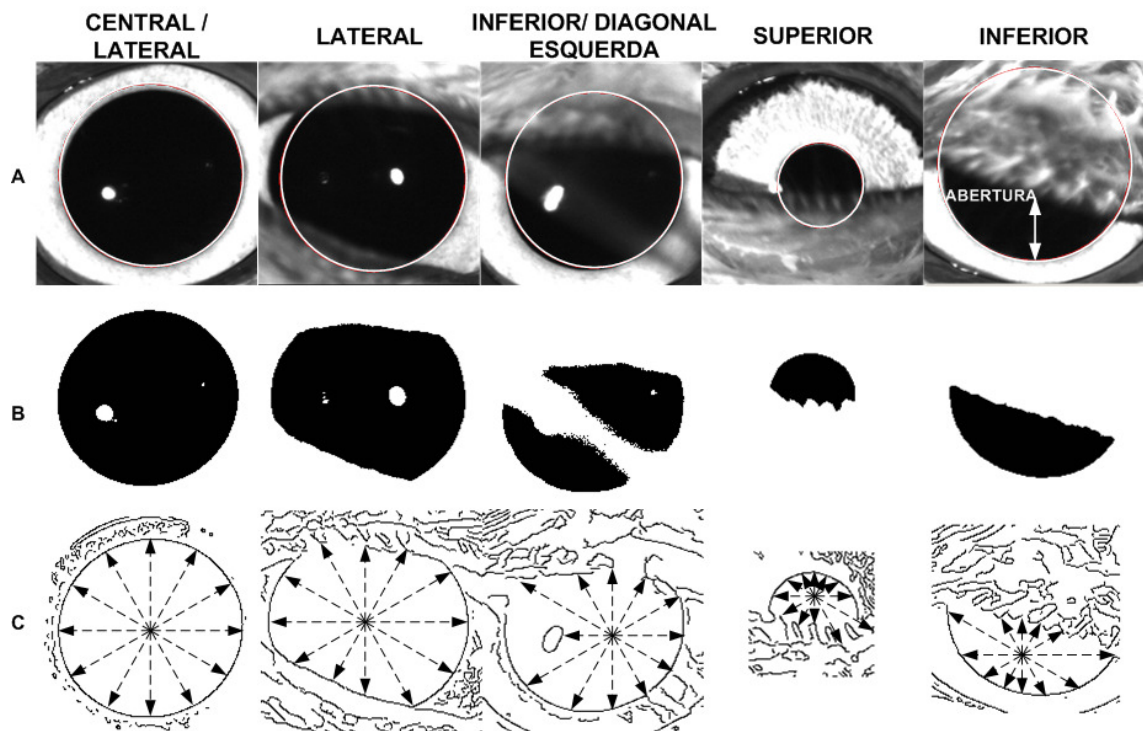


Figura 35 - Exemplos de estimaco para olho de coruja buraqueira.

(A) Cinco imagens originais com as respectivas sobreposioes de estimacoes. (B) Resultados dos processos de segmentacoes em cada caso. (C) Ilustracoes dos processos de busca direcional dos 12 pontos que servem de base na composioes dos vetores candidatos. As designacoes das colunas informam qual(is) vetor(es) melhor se adequa(m) ao processo de estimacoes da pupila.

3.5.2.2. Rejeioes de artefatos no ps-processamento

A detecoes e a estimacoes automtica de pupila reduzem o tempo de processamento global comparado a um procedimento manual. No entanto, esse processo no  completamente imune a erros de estimativa. Certas contingncias, como grandes (>20 pixels) deslocamentos da pupila entre quadros consecutivos, iluminaoes no homognea ou oclusoes parcial da pupila, podem levar a estimativas erradas. Por esta razoes, foi construdo um mdulo de visualizaoes e correoes de erro que permite ao usurio caminhar quadro-a-quadro ao longo do vdeo e visualizar o contorno estimado da pupila sobreposto  imagem original do olho e executar os ajustes desejados. Novos valores de centro da pupila e dimetro podem ser atribudos utilizando campos numricos disponveis para este fim. A opoes para salvar todas

as mudanças aplicadas é dada ao usuário no encerramento da execução do módulo. Alternativamente, dependendo do número de quadros totais que devem ser corrigidos manualmente, o reprocessamento automático de todo ou parte do vídeo, com redefinição de parâmetros tais como: limiar e ROI pode ser uma opção mais eficiente. Após a correção das estimações, a curva diâmetro de pupila v.s. tempo é gerada, entretanto é necessário corrigir os artefatos temporais introduzidos por perdas de quadro. Este procedimento é realizado a partir da informação contida no vetor de *timestamps* armazenado no arquivo TDMS, onde existe um *timestamp* correspondente para cada estimativa de diâmetro da pupila.

3.6. Avaliação da plataforma

Para avaliação das medidas obtidas com o protótipo portátil foram realizados testes com vídeos animados (olho sintetizado) e reais com um manequim e um voluntário, respectivamente. Já para o protótipo fixo, foram realizadas coletas utilizando a coruja buraqueira.

3.6.1. Protótipo portátil

3.6.1.1. Vídeos animados

O objetivo deste teste é simular condições que se aproximem da filmagem de um olho humano. Dessa forma, foi desenvolvida uma aplicação que simula um olho e considerou-se que este olho é constituído apenas de íris e pupila, ambos com formato circular. Por meio da interface da aplicação (Figura 36) é possível habilitar movimentos randômicos do olho utilizando as variáveis *Y_Randômico* e *X_Randômico*. Também é possível simular variações no tamanho da pupila habilitando a variável *PupilaVariável* e indicar se esta variação será crescente ou decrescente. O tamanho máximo possível para pupila é o valor do diâmetro da íris, no caso em questão, igual a 10 (pixel). Para os testes com vídeos animados foram gerados dois vídeos, denominados teste estático e teste dinâmico, com formato do quadro de 320 X 240 com 255 níveis de cinza.

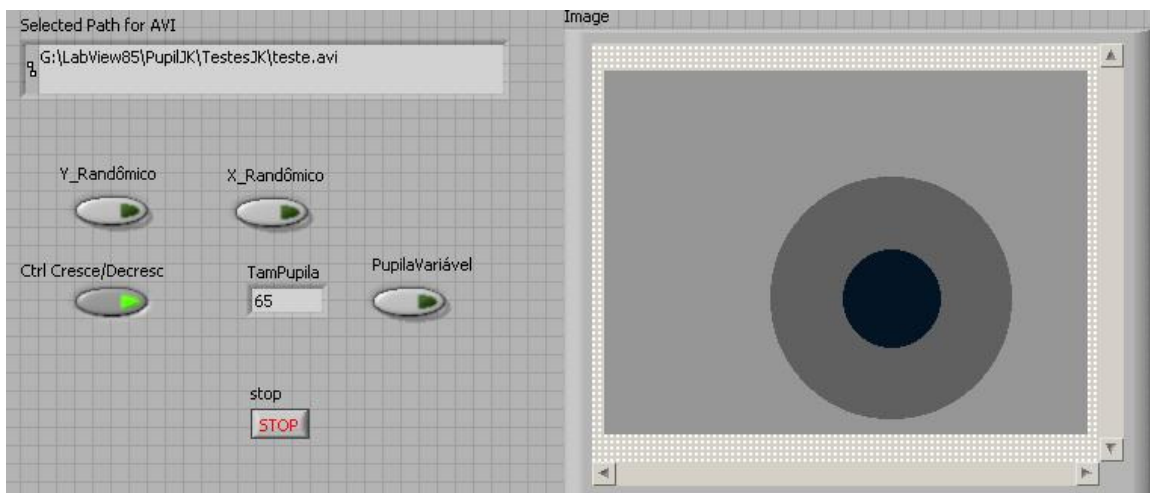


Figura 36 - Interface para geração de filme sintético para simulação de um olho constituído apenas de íris e pupila.

No teste estático, o olho permanece parado, como pode ser observado nas curvas OrigemX e OrigemY da Figura 37, que se mostram constantes ao longo do ensaio.

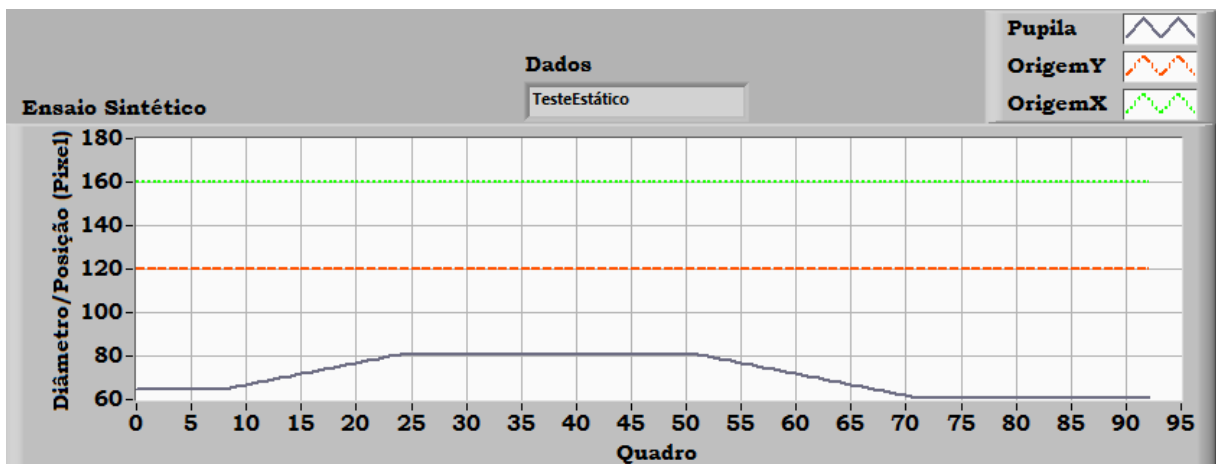


Figura 37 - Teste estático - Avaliação da detecção da pupila.

Na Figura 38, para uma melhor visualização da estimação, foram suprimidas as curvas X e Y de posição da pupila e plotadas simultaneamente as curvas de diâmetro sintetizado pela aplicação e estimado pelo algoritmo do sistema. O erro médio (em pixel) da estimação foi de $0,09 \pm 1,51$.



Figura 38 - Teste estático - Avaliação da variação do diâmetro da pupila.

O teste dinâmico apresenta um maior grau de dificuldade para o algoritmo de detecção devido à variabilidade da posição do centro da pupila, conforme pode ser observado nas curvas OrigemX e OrigemY da Figura 39.

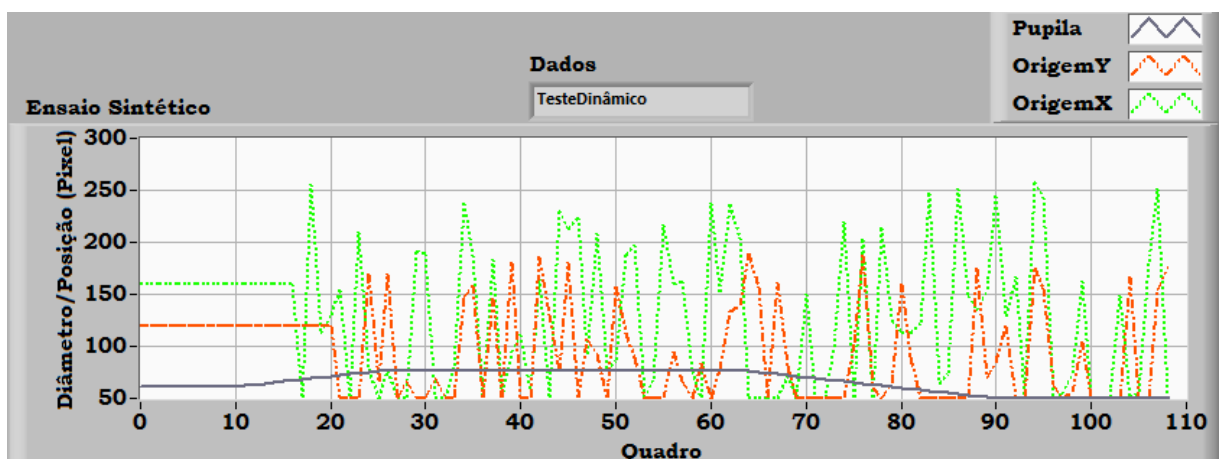


Figura 39 - Teste dinâmico - Avaliação da variação do diâmetro da pupila.

Na Figura 40, é possível observar uma variabilidade entre os valores da pupila sintetizada e estimada, inclusive em trechos onde a pupila apresenta tamanho constante. O erro médio (em pixel) da estimação foi de $-0,16 \pm 1,64$.

Nos gráficos comparativos dos diâmetros sintético e estimado (Figura 38 e Figura 40), tanto para o teste estático quanto para o dinâmico, observa-se que a maior incidência de erros ocorre nos trechos onde existe variação do diâmetro da pupila. Para trechos onde o diâmetro da pupila é constante, ocorre um descasamento das curvas para as pupilas sintéticas cujo diâmetro apresenta valor ímpar (diâmetro= 75 - Figura 40).

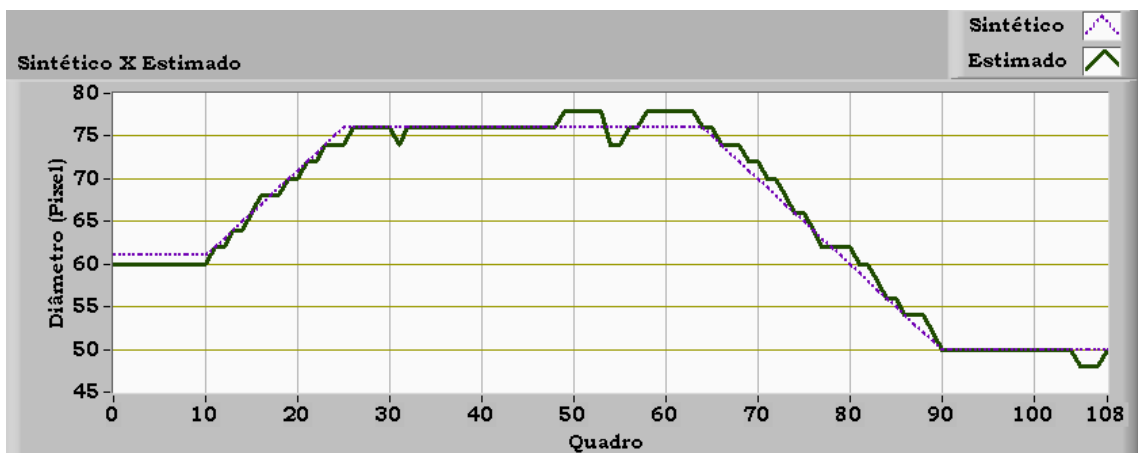


Figura 40 - Teste dinâmico - Avaliação da variação do diâmetro de pupila.

Isso ocorre devido ao algoritmo de sintetização do olho, que desenha a pupila com base no raio cujo valor é metade do diâmetro. Como o diâmetro sofre variações de 1 pixel, será gerado um erro de $\frac{1}{2}$ pixel no raio quando o diâmetro assumir um valor ímpar. Além disso, na região de fronteira entre a pupila e a íris existe uma variação no nível de cinza dos pixels. Para visualizar este problema, foi realizado um corte nesta região de transição usando um quadro do vídeo animado e aplicando-se um zoom de 2 vezes (Figura 41). Também é possível observar que o contorno da pupila não é um círculo perfeito, sendo este problema dependente da resolução da imagem. O erro máximo nos ensaios realizados foi de aproximadamente ± 2 pixels.



Figura 41 - Zoom de 2X na região de transição da pupila para a íris.

3.6.1.2. Vídeos Reais

Os vídeos reais foram utilizados para avaliar as medidas do diâmetro da pupila em diferentes condições. No primeiro caso a pupila foi simulada usando-se uma lentejola colocada num manequim (sem existência de movimentação do olho). Já no segundo caso,

foram realizadas medidas em voluntárias e corujas buraqueiras, impondo-se condições mais severas tanto para a coleta quanto para o processamento do filme.

Manequim

No estudo realizado com um manequim, o principal objetivo foi utilizar o sistema em condição controlada, onde situações como movimentação ocular, piscamento e variação do diâmetro da pupila não ocorrem (Figura 42). Para simulação da pupila foi adaptada uma lentejola com diâmetro de 6 mm (Figura 42A). Neste teste foi simulada a condição de ensaio com humanos colocando-se a máscara do pupilômetro no manequim (Figura 42B).

Durante 660s de coleta foram registrados um total de 19 falhas (gráfico inferior da Figura 43). Os dois maiores picos da curva, cuja amplitude é de aproximadamente 32 ms, correspondem a perdas de 3 quadros consecutivos, uma vez que a taxa de amostragem é de 8,33 ms. A frequência de aquisição obtida foi de 120,1Hz sendo este valor baseado no *timestamp* do primeiro e do último quadro recebidos. A relação pixel/mm para este ensaio (com resolução de 320 X 240) foi de 14,7, resultando numa resolução de 0,07 mm (descrição de dados - Figura 43).

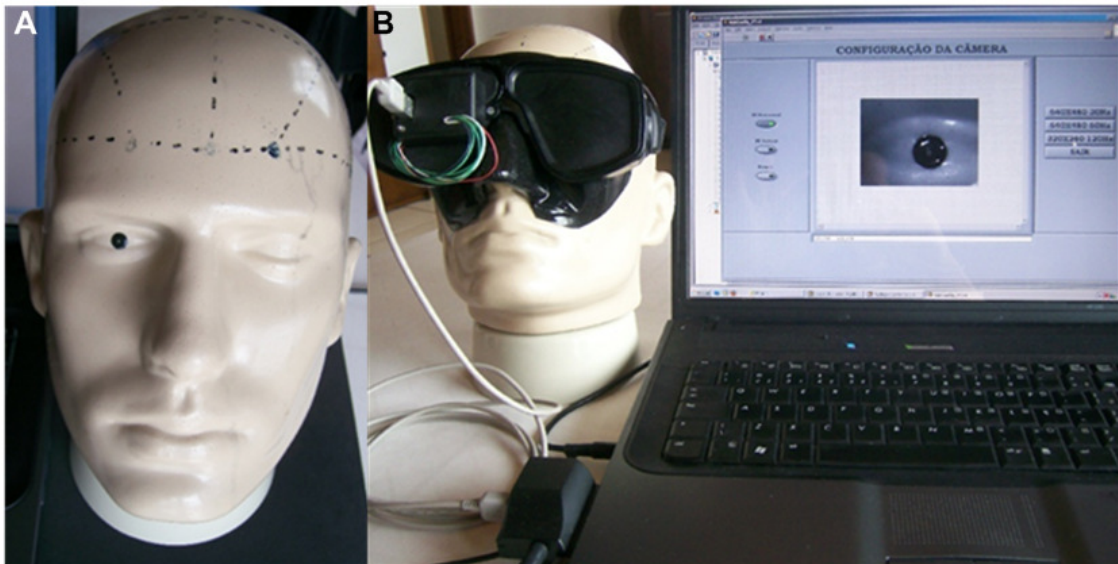


Figura 42 - Ensaio com manequim.

(A) Manequim com pupila simulada. (B)-Manequim preparado para coleta de dados com pupilômetro.

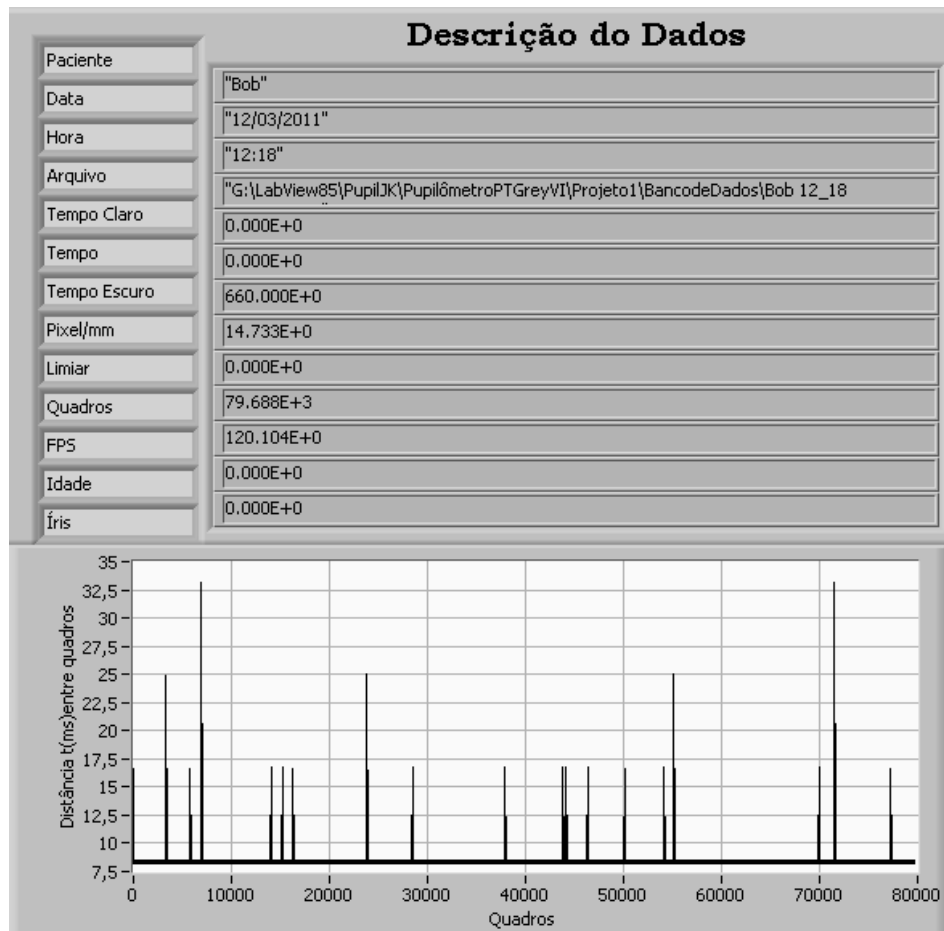


Figura 43 - Resumo da aquisição de dados no manequim.

O diâmetro médio da pupila foi de $6,16 \pm 0$ num total de 79688 quadros (Figura 44).

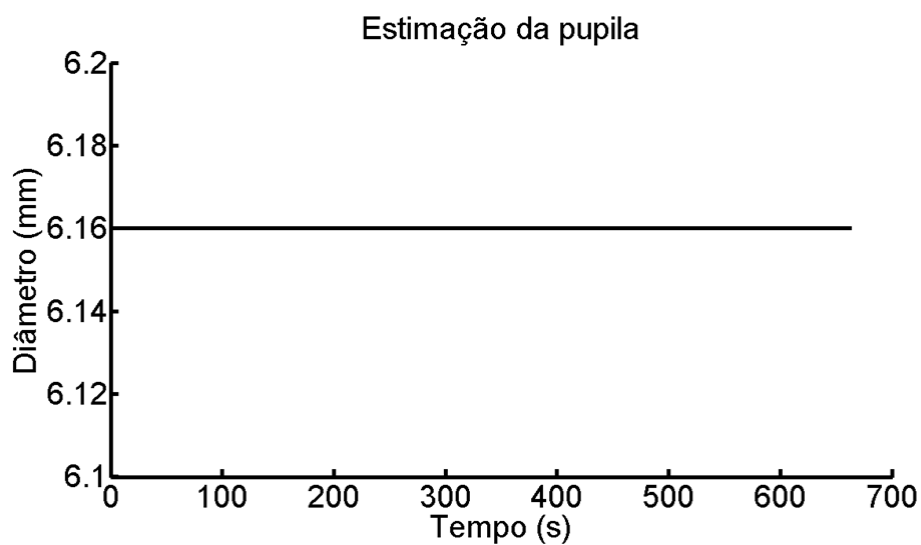


Figura 44 - Estimação do diâmetro da pupila no manequim com resolução espacial de 320 X 240.

Um aumento na resolução espacial do sistema para 640X480 proporcionou uma melhor relação pixel/mm (0,03 mm). Nessa nova configuração, foi obtido um diâmetro médio da pupila de $5,87 \pm 0,03$ mm num total de 3602 quadros. Devido à restrição da câmera, este aumento na resolução espacial provocou uma queda de 120 Hz para 60 Hz na resolução temporal. As médias obtidas nos dois ensaios validam o procedimento de determinação da relação pixel/mm, assim como o algoritmo de detecção e estimação do diâmetro pupilar. Embora o refinamento na resolução espacial (0,07 para 0,03 mm) torne o sistema mais preciso, uma maior instabilidade no algoritmo de estimação é observada. A Figura 45 mostra a variabilidade no diâmetro da pupila quando a resolução espacial foi aumentada para 640X480.

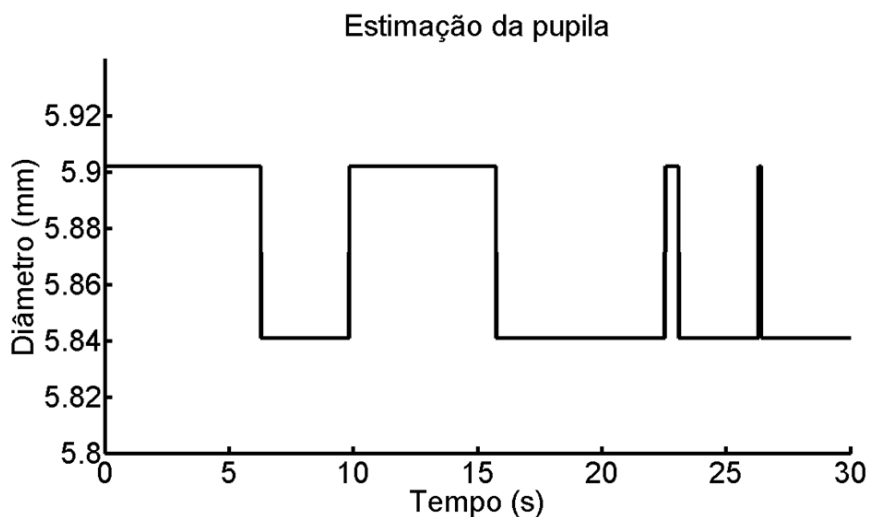


Figura 45 Estimação do diâmetro da pupila no manequim com resolução espacial de 640 X 480.

Voluntário

O ensaio com um voluntário participante do projeto (Figura 13B) impõe condições mais severas para o algoritmo de estimação, entretanto possibilita apresentar medidas de diâmetro da pupila assim como eventos de piscamento.

O voluntário foi preparado com aplicação da lantejola (6 mm) sobre a pálpebra (Figura 13C). Este procedimento não necessita aplicação de produto para fixação da lantejola, pois a própria oleosidade da pele produz a aderência necessária. Em seguida foi colocada a máscara do pupilômetro no voluntário para a obtenção da relação pixel/mm, obtendo-se uma resolução para medidas de diâmetro de 0,07mm.

Durante 60s de coleta foram registradas 3 falhas, sendo a maior delas de 2 quadros consecutivos. A taxa de aquisição obtida foi de 120,04 Hz, valor este baseado no *timestamp* do primeiro e do último quadro recebidos.

Após correção das falhas de captura, a curva de diâmetro da pupila (Figura 46) com ocorrência de eventos de piscamento foi obtida. As medidas de diâmetros (valor médio de $5,4 \pm 0,40$ mm) foram obtidas após filtragem dos eventos de piscamento e variaram na faixa de 4,6 a 5,8 mm. Esses valores são similares às medidas realizadas em outros estudos em condições semelhantes (Goldwater, 1972).

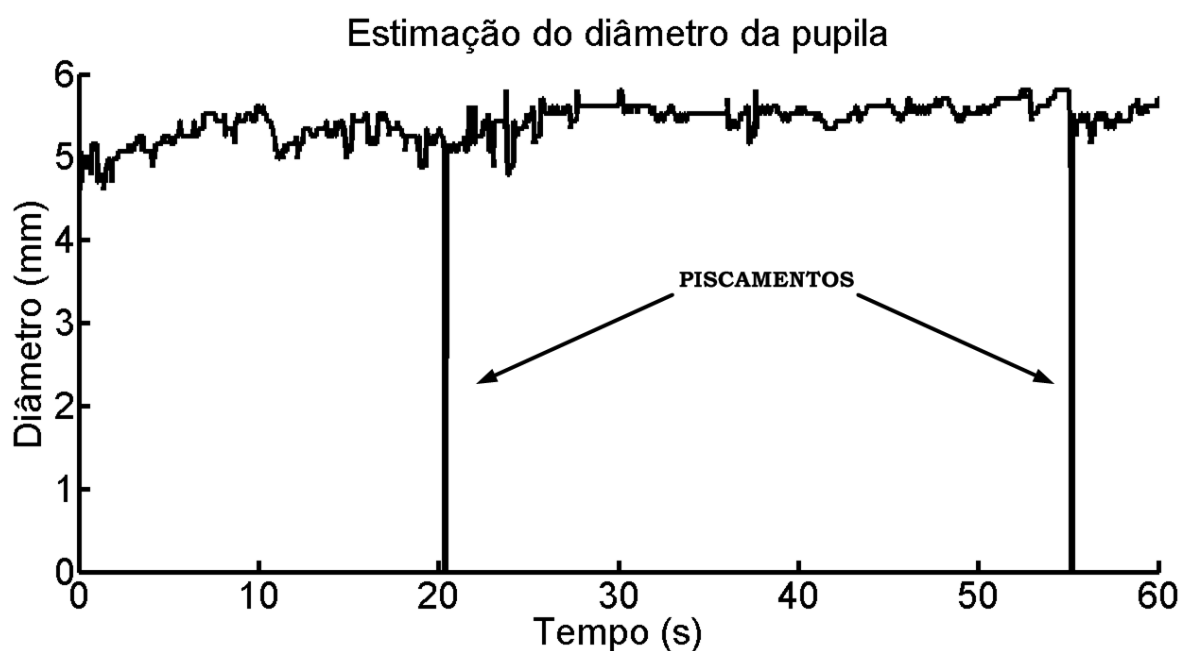


Figura 46 - Estimação do diâmetro da pupila em voluntário, com resolução espacial de 320 X 240. Variação do diâmetro da pupila de um sujeito adulto normal, registrada sob condição de cerca de 20 lux, durante um período de 60 s.

Como pode ser visto na Figura 47, o algoritmo é também capaz de detectar piscamento e estimar sua duração. Em trabalhos futuros, algoritmos mais sofisticados podem ser aplicados com o objetivo de recuperar a dinâmica das pálpebras, tendo-se, por exemplo, a proporção de área da pupila coberta como uma característica referencial (Bracha *et al.*, 2003).

Para avaliar a precisão do algoritmo de estimação, foi colocado manualmente na imagem avaliada um círculo que melhor se adaptasse à borda da pupila, utilizando-se para isto o software ImageJ 1,44 (NIH, <http://rsb.info.nih.gov/ij/>) e comparando-se com a medida automática realizada pelo sistema. Foi avaliado um total de 120 quadros selecionados aleatoriamente a partir de ensaios pupilométricos realizados em três voluntários (40 quadros por voluntário). Tais procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP; 0763/10). Como pode ser visto na Figura 48,

foi encontrada uma alta correlação ($\rho = 0,91$; $p < 0,0001$; teste de correlação Spearman's rank) entre as estimações manual e automática. Os pares de pontos foram distribuídos próximo da linha de igualdade (linha sólida), indicando um alto nível de concordância entre as medidas.

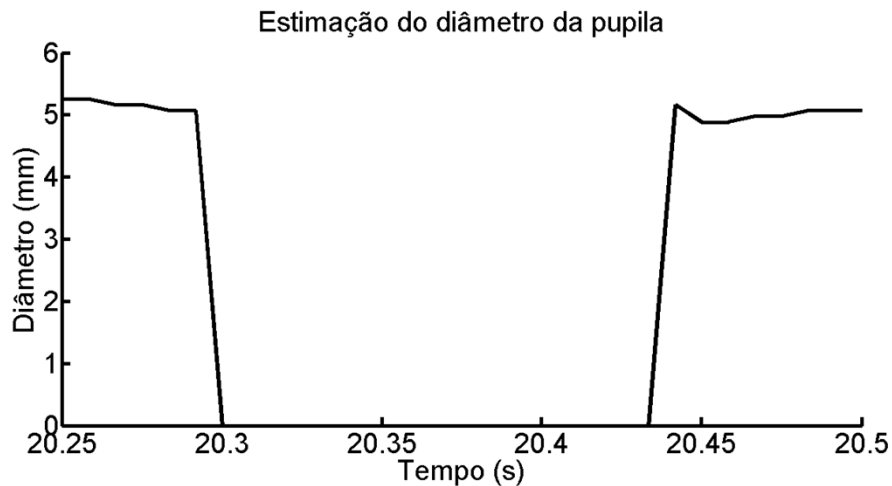


Figura 47- Detecção e Estimação da duração de um piscamento em ensaio com voluntário
Zoom do primeiro pico de amplitude zero correspondente a um piscar de olho no gráfico da Figura 46.

A inclinação da curva de regressão (linha pontilhada) obtida foi igual a 1.0, com um intervalo de confiança de 95% (0,98-1.02). Note-se que existe uma ligeira tendência de superestimação nas medidas manuais. Isso pode ser confirmado observando os valores de medianas obtidos (25° e 75° percentis foram utilizados para medir a dispersão dos pontos): 54 pixels (36-56) para as medidas automáticas e 55,5 (40-57) para as medidas manuais. Entretanto estatisticamente estes valores não diferem ($p = 0,05$; teste de Kruskalwallis). Lu *et al.* (2008) também observaram esta tendência e apontaram que não é necessariamente um erro do algoritmo de medição, mas apenas uma inconsistência nas medidas manuais.

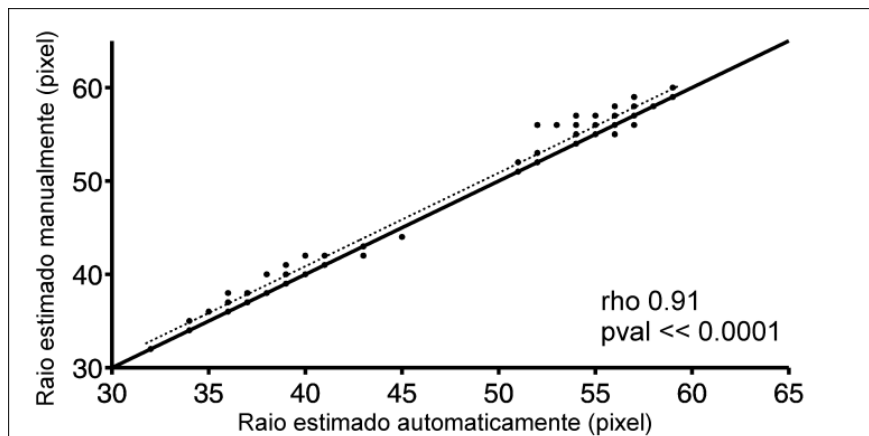


Figura 48 – Comparação entre medidas manual e automática de diâmetro de pupila.
A linha sólida corresponde a $x=y$ e a linha pontilhada mostra a inclinação da curva de regressão linear dos 120 pontos avaliados.

3.6.2. Protótipo Fixo

Os experimentos realizados com coruja buraqueira foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA, licença n ° 2004/01) da Universidade Federal de Minas Gerais.

Com o protótipo fixo usando a coruja buraqueira, buscou-se avaliar se a forma circular usada pelo algoritmo para estimar o diâmetro satisfaz a morfologia pupilar da coruja. Alguns estudos mostram que a pupila não tem uma forma estritamente circular. Esta não circularidade poderia ser causada por fatores inerentes à anatomia da pupila (Bremner, 2009) ou pelo posicionamento do sujeito em relação à lente da câmera. Um ensaio foi realizado para validar se a estimativa realizada considerando a forma elíptica da pupila tornaria mais precisa a estimação.

Para investigar esta questão, a área estimada pelo algoritmo do círculo foi comparada com a área da elipse estimada manualmente utilizando o programa de processamento de imagem de domínio público ImageJ 1,44 (NIH, <http://rsb.info.nih.gov/ij/>). A Figura 49 mostra uma correlação elevada ($\rho = 0,88$; $p \ll 0,0001$) entre as áreas normalizadas obtidas para o círculo e para a elipse. Como pode ser visto, os pares de pontos estão distribuídos próximos da linha de igualdade (linha sólida; $x=y$), indicando um elevado nível de concordância entre as duas formas geométricas. A comparação entre as duas formas não mostrou diferença estatisticamente significativa e o coeficiente de regressão foi de 0,81.

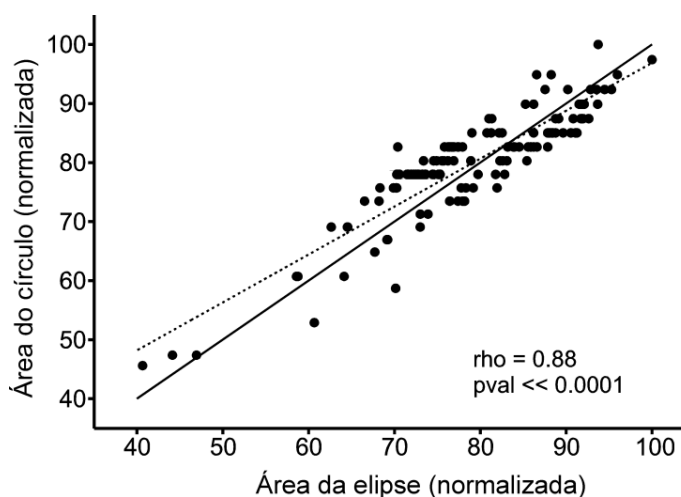


Figura 49 – Comparação da área do círculo representativo da pupila medida pelo algoritmo do sistema com a da elipse medida manualmente com o software ImageJ. A linha sólida corresponde a $x=y$ e a linha pontilhada, a regressão linear da relação das medidas. Coeficiente de correlação (Spearman's rank) entre as medidas ($\rho=0,88$, $p\ll 0,0001$) para $n = 131$.

3.7. Discussão

Com relação às medidas pupilométricas fornecidas pelo algoritmo de detecção e estimação, foi possível observar, por meio dos vídeos animados, que nos trechos onde ocorre a variação do diâmetro da pupila a estimação torna-se mais sensível, embora a mesma tenha ficado sempre dentro da faixa de ± 2 pixels (item 3.6.1.1).

Com os vídeos reais, obtidos utilizando o manequim (item 3.6.1.2) as medidas de diâmetro da pupila (lantejola 6 mm) (Figura 42) apresentaram uma média de $6,16 \pm 0$ mm num total de 79684 quadros (Figura 44). Esse resultado valida o algoritmo de detecção e estimação, como também o procedimento de determinação da relação pixel/mm. O ensaio com o dobro da resolução espacial (640X480 - Figura 45) proporcionou uma melhor relação pixel/mm (0,03 mm), entretanto limitou a resolução temporal em 1/60 Hz.

No modelo humano, viabilizado pela participação de um voluntário, foi obtido o valor médio de diâmetro pupilar de $5,4 \pm 0,40$ mm, que se encontra dentro da faixa padrão de pupila (3 – 9 mm). Entretanto, encontra-se abaixo do diâmetro escotópico definido pela relação de $DDe = 8,283 - (0,043 \times A)$, que determina o valor de cerca de 6,2 mm para o voluntário de 48 anos (Bremmer, 2009).

Com os ensaios realizados com a plataforma fixa, não houve diferença estatisticamente significativa entre estimações baseadas na forma geométrica circular e elíptica para o olho da coruja buraqueira.

Quanto à detecção de piscamento, embora esta seja realizada de forma precisa, o mesmo não ocorre em relação à medida de seu tempo de duração, pois existe uma imprecisão do algoritmo na determinação dos momentos de início e fim do piscamento. Entretanto, o sistema é capaz de fornecer a medida de abertura de pálpebra (coluna inferior/diagonal esquerda Figura 34A–coluna inferior da Figura 35A), permitindo que por meio da relação entre área da pupila exposta à luz e respectivo diâmetro estimado seja possível a obtenção de métricas mais precisas para determinação dos tempos envolvidos na dinâmica do piscamento.

Sobre o desempenho de hardware, foi possível a obtenção de uma taxa estável de 120 FPS (quadros/segundo) (item 3.6.1.2). Outros ensaios que apresentam desempenho semelhante são apresentados no Apêndice B.3 juntamente com uma avaliação de perda de captura pontual, assim como de perdas consecutivas que são mais críticas para o sistema. É importante ressaltar que o problema de perda de quadros não reside na câmera, mas sim nos sistemas operacionais populares como Windows, que não dão suporte a tempo real. Entretanto

o não determinismo na aquisição de imagens não impede uma análise rigorosa do comportamento da pupila, já que nos ensaios realizados as falhas ocorridas não foram significativas e, por consequência, corrigidas por meio de interpolação. Por outro lado, certas precauções de hardware e software devem ser tomadas. Como regra geral, computadores com mais recursos de memória RAM e de velocidade do processador apresentaram melhores desempenhos. Deve-se optar por versões de sistema operacional que demandem um menor número de processos para sua execução (por exemplo, Windows XP). No Apêndice B.3 são apresentados alguns ensaios com diferentes configurações de hardware e sistema operacional que podem ser utilizados como referência para reprodução da plataforma. Cabe destacar que também é importante desativar tarefas, tais como varredura de antivírus, desfragmentação de disco e outras aplicações durante as sessões de gravação.

Além disso, embora não tenham sido realizados testes específicos da influência de capacidade de armazenamento de disco rígido sobre o desempenho de temporização do sistema, vale ressaltar um comportamento observado nos ensaios realizados ao longo do desenvolvimento da plataforma: a perda de quadros e a descontinuidade do sinal durante a aquisição de vídeo é minimizada quando é reservado no disco rígido um espaço que corresponda a pelo menos 5 vezes o tamanho exigido por uma seção de gravação. Para superar essa alta demanda de espaço em disco (76 Kbytes por quadro de 8 bits, 320 x 240 pixel), diferentes estratégias de redução do volume de dados podem ser adotadas. Uma estratégia é aplicar técnicas de compressão de dados *on-line* durante o salvamento do filme. No entanto, a maioria dessas técnicas degrada a imagem original (modificam os valores dos pixels) e impede a recuperação das marcas de tempo incorporadas no quadro. Uma segunda abordagem é salvar apenas o campo ímpar do quadro. Em testes de estimação aplicados apenas no campo ímpar da imagem, não houve variações significativas nas estimações dos diâmetros das pupilas. Em geral, essas estratégias reduzem significativamente o volume de dados, mas aumentam a perda de quadros, devido ao tempo necessário para a compactação dos dados. Compactadores não destrutivos, tais como ZIP, ARJ ou 7z podem reduzir o tamanho do arquivo em até 60%, mas devem ser aplicados após a aquisição e armazenamento do filme.

Em função dos resultados positivos obtidos com os protótipos portátil e fixo, foram realizados dois estudos, que são dependentes das particularidades existentes nessas plataformas. Nos capítulos 4 e 5, a seguir, esses estudos são apresentados de forma detalhada.

CAPÍTULO 4 - REFLEXO PUPILAR À LUZ NA CORUJA BURQUEIRA

Neste capítulo, é apresentado um estudo piloto de avaliação do reflexo pupilar à luz (RPL) na coruja buraqueira (*Athene cunicularia*) adulta, desenvolvido em parceria com o laboratório de Neurodinâmica do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, com participação do doutorando Pedro Gabrielle Vieira, orientado pelo Prof. Jerome Baron. A introdução apresenta uma revisão bibliográfica abordando os principais aspectos do RPL. Em seguida é apresentada a metodologia de preparação das corujas. Finalmente são apresentados os resultados deste trabalho e uma discussão onde são abordadas as principais características e funcionalidades da plataforma de aquisição de imagens que viabilizaram a realização do trabalho.

4.1. Introdução

Com o ensaio de RPL se avalia a constrição da pupila em função de um aumento na iluminação da retina. Nos vertebrados, o diâmetro da pupila é regulado por dois músculos, denominados de esfíncter e dilatador da pupila, inervados respectivamente pelos sistemas parassimpático e simpático, contribuindo para diferentes graus de constrição e dilatação pupilar (Lowenstein *and* Loewenfeld, 1950a, b). O RPL é estudado em répteis, aves e mamíferos, entretanto com maior atenção para os últimos. De fato, investigações pupilares realizadas nos anos de 1950 até os dias atuais, principalmente por Loewenstein e Loewenfeld, reúnem uma vasta gama de informações valiosas sobre sua dinâmica (Hammond *and* Mouat, 1985), substrato neuronal (Carpenter *and* Pierson, 1973) e sua relação com distúrbios psicofisiológicos (Fan *et al.*, 2009; Fotiou *et al.*, 2009; Hori *et al.*, 2008). Nos répteis, em especial na tartaruga, a dinâmica do reflexo pupilar é extremamente lenta quando comparada com a de mamíferos e aves, levando de 5 a 10 minutos para atingir sua constrição máxima (Granda *et al.*, 1995). Já nas aves, apesar do pequeno número de estudos em relação aos mamíferos, elas tornaram-se um modelo interessante para o estudo do RPL, por sua característica intrínseca e em especial a coruja buraqueira, pelo seu comportamento “catemeral”. Esse comportamento se caracteriza pela presença de atividade durante as 24 horas do dia, diferentemente dos humanos, que apresentam apenas dois períodos distintos identificados pelo estado de alerta e sono.

Dentre as semelhanças entre aves e mamíferos destacam-se, (1) via neuronal do RPL (Gamlin *et al.*, 1984); (2) controle da resposta da pupila por atributos do estímulo (distribuição espacial, cor), além da luminância (Barbur *et al.*, 2002). Entre as diferenças que

nitidamente distinguem essas duas classes de animais em relação ao sistema visual têm-se: (1) as especificidades da via do RPL (por exemplo, a projeção inteiramente cruzada que parte do pré-teto para o núcleo de EW (Edinger-Westphal) (Gamlin *et al.*; 1984); (2) a estrutura da musculatura da íris (Mann, 1931) que, em aves, é composta principalmente por células estriadas, em oposição às células lisas em mamíferos; e (3) a ausência de resposta consensual, isto é, a resposta pupilar nos dois olhos ocorre independentemente um do outro ((Levine, 1955; Schaeffel *et al.*, 1986) , embora Li *and* Howland (1999) tenham mostrado um comportamento contrário. Quanto às métricas básicas do reflexo pupilar à luz, como o tempo de duração da constrição e da dilatação, velocidade, latência, poucos dados estão disponíveis, mas existem para os pombos (Alexandridis, 1967) e galinhas (Barbur *et al.*, 2002). Além disso, os dados sobre o RPL das aves foram mais limitados a observações qualitativas que quantitativas, uma vez que estes estudos não têm como objetivo principal a avaliação das métricas de RPL.

Buscando obter métricas quantitativas básicas do reflexo pupilar e estabelecer novas perspectivas sobre as propriedades funcionais da via neural mediando esse reflexo em aves, o presente estudo foi conduzido utilizando-se como modelo a coruja buraqueira (*Athene cunicularia*) adulta. De acordo com a pesquisa bibliográfica realizada, apenas dois trabalhos fornecem alguns dados qualitativos do RPL neste grupo de pássaros; um em estudo realizado com coruja-das-torres (*Tyto alba* - (Schaeffel *and* Wagner, 1992)) e, outro, em coruja-do-mato (*Megascops asio* - (Bishop *and* Stark, 1965)). Para medições pupilares, foi utilizado o protótipo fixo descrito no item 3.4.2. Os resultados indicam que, embora a forma básica da curva de resposta pupilar à luz seja semelhante ao que foi descrito na maioria dos vertebrados, métricas derivadas a partir delas mostraram-se muito diferentes do que foi relatado para mamíferos ou mesmo para aves.

4.2. Material e Métodos

4.2.1. Visão geral

Reflexos pupilares à luz foram obtidos utilizando-se três corujas buraqueiras adultas, da espécie *Athene cunicularia*. Todos os procedimentos experimentais foram realizados seguindo um método para a fixação de cabeça descrito em detalhes por Baron *et al.* (2007) e se beneficiam do fato de que os movimentos dos olhos em corujas são extremamente limitados (Pettigrew *and* Konishi, 1976; Steinbach *et al.*, 1974), alcançando uma amplitude máxima de 0,5° na coruja buraqueira (Cooper *and* Pettigrew, 1979). Consequentemente, uma

vez que a cabeça do animal é fixada, medições pupilares estáveis podem ser obtidas. Os protocolos utilizados neste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA, licença n ° 2004/01), da Universidade Federal de Minas Gerais, e foram realizados em conformidade com as diretrizes estabelecidas pela *European Communities Council Directive*, de 24 de Novembro de 1986 (86/609/CEE). As corujas foram mantidas em um viveiro ao ar livre, com licença do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA, a licença n ° 3076223).

4.2.2. Gravação do reflexo pupilar

A Figura 20 mostra a configuração preparada para gravação do reflexo pupilar em função da estimulação visual. Os quadros do filme foram adquiridos com a frequência de amostragem de 120 Hz e uma resolução de medida de aproximadamente 0,06 mm para uma resolução espacial da imagem de 320x240 pixels. A captura de imagem foi sincronizada com a estimulação visual (para mais detalhes, ver item 3.4.2).

No início de cada sessão de gravação, foi definida a relação métrica entre tamanho da imagem em pixel e seu tamanho no mundo real, um passo necessário para o fornecimento de medidas do tamanho da pupila em valores absolutos. Para isso, foi colocado um objeto (régua) de tamanho conhecido no plano de visão do olho a ser medido, e uma imagem do objeto foi capturada. Em seguida, foram selecionados dois pontos na imagem cuja distância em pixel foi utilizada para a conversão métrica, de acordo com o tamanho real do objeto.

4.2.3. Estímulo visual e protocolo experimental

Os estímulos visuais consistiam de grandes campos uniformes de luz acromática, que variaram de forma aleatória quanto à luminosidade, exibidas em um monitor CRT de 19 polegadas (Samsung SyncMaster 955DF), com uma resolução de 1024 × 768 pixels. O monitor foi colocado a 35 cm dos olhos da coruja, produzindo um estímulo com uma posição angular de 39,4° x 26,6°, configurado para o modo RGB com 8 bits e com uma correção de gama para produzir um comportamento linear na luminância exibida. Medições fotométricas foram realizadas periodicamente com o colorímetro ColorCal (Cambridge Research Systems, UK) visando verificar a estabilidade da calibração de luminância do monitor.

Para avaliação quantitativa do reflexo pupilar, foram aplicados dez valores de luminosidade que variam de 3,2-160 cd/m², em ordem aleatória. O protocolo utilizado para capturar o reflexo pupilar era constituído de dez níveis de luminância (3,2, 6,2, 9, 15,5, 31,1,

47,9, 65,3, 98,2, 129,2, 160,0 cd/m^2) apresentados durante 100 ms, com 20 minutos anteriores de adaptação ao escuro. Cada ensaio consistiu de 1 s de tela em branco, seguido por um *flash* de estímulo breve (100 ms). Um intervalo de 9 segundos entre estímulos foi escolhido para permitir a recuperação completa da pupila para o estado adaptado. Cada condição de estímulo foi apresentada 15 vezes em uma ordem pseudo-aleatória em bloco. Todas as corujas foram testadas com um mínimo de 2 e um máximo de 4 vezes, gerando no mínimo 30 e, no máximo, 60 estimulações/nível por coruja.

4.2.4. Análise de dados

Após a coleta de dados, os filmes foram submetidos ao processo de detecção e estimação de pupila, conforme descrito no item 3.5.2. Em seguida, a curva de reflexo da pupila para cada ensaio foi suavizada com um filtro média móvel (janela=3) e analisada por meio de um conjunto integrado de programas computacionais desenvolvidos em Matlab® (MathWorks, EUA), gerando todas as métricas descritas a seguir. Seis métricas foram estimadas (Figura 50): (1) constrição máxima da pupila, que refere-se ao ponto de mínimo na curva do reflexo pupilar, (2) latência, determinada pelo intervalo de tempo entre a apresentação do estímulo e a resposta pupilar. Este parâmetro foi obtido considerando o ponto de mínimo (pico negativo) da derivada segunda da curva de reflexo pupilar; (3) tempo de constrição, determinado pelo período entre a apresentação do estímulo e a constrição máxima da pupila; (4) tempo de dilatação, que é o período de tempo entre a constrição máxima e a estabilização do tamanho da pupila (estado adaptado); (5) velocidades de constrição e (6) dilatação, obtidas por meio da derivada primeira da curva de reflexo pupilar. O ponto de mínimo (pico negativo) e de máximo (pico positivo) que correspondem, respectivamente, às velocidades instantâneas máximas de constrição e de dilatação, foram considerados como as velocidades de constrição e de dilatação, respectivamente.

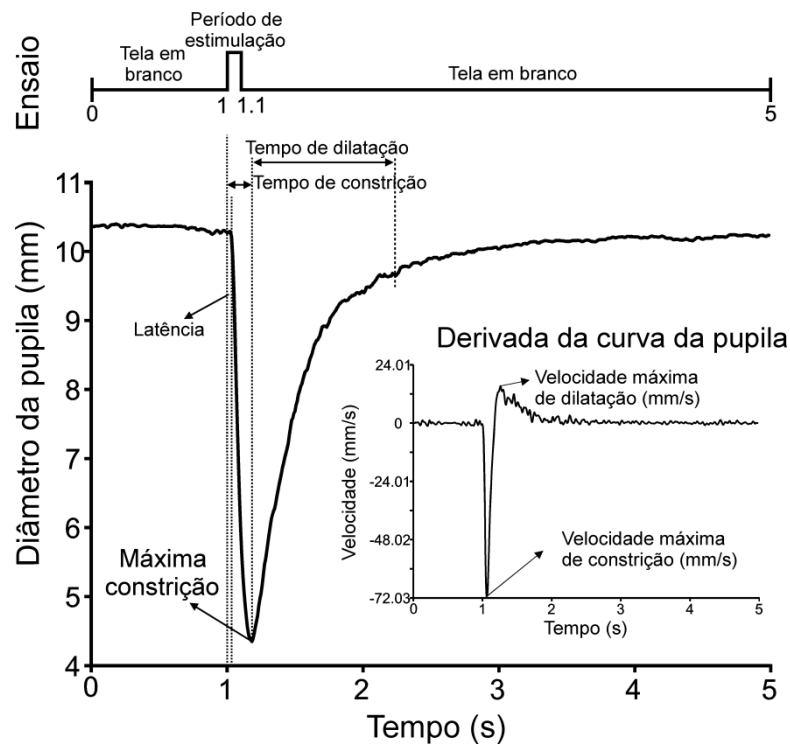


Figura 50 – Métricas derivadas do RPL em coruja buraqueira.

Curva gerada utilizando um flash de estímulo de 100 ms. Internamente é mostrada a curva da derivada utilizada para calcular a curva de velocidade.

Ensaio com ocorrência de piscamento e/ou movimentos palpebrais foram detectados e removidos antes da estimação das métricas. Em função disso, o número total de ensaios analisados diferiu entre corujas. No entanto, um mínimo de 27 estimulações/nível válidas foi obtido para cada uma das corujas, levando a uma boa estimativa das métricas avaliadas. É importante reforçar que os movimentos dos olhos são extremamente limitados em corujas, aumentando ainda mais a qualidade da estimativa das métricas da pupila.

4.2.5. Estatísticas gerais

Vários padrões de testes estatísticos foram aplicados aos dados específicos deste capítulo. Foi utilizada a modificação Lilliefors do teste de Kolmogorov-Smirnov para verificar a normalidade dos conjuntos de dados. Nos dados com distribuição normal, aplicou-se o teste-t para comparar as médias de duas populações ou um teste ANOVA para comparações entre mais de duas populações. Caso contrário, foram utilizados o Wilcoxon rank-sum ou Kruskal-Wallis como equivalentes não paramétricos dos testes t- e ANOVA, respectivamente. O nível de significância utilizado para todos os testes foi de $P < 0,05$.

4.3. Resultados

4.3.1. Reflexo pupilar à luz

Salvo disposição contrária, neste estudo, os resultados de tendências centrais presentes nesta seção são apresentados como mediana e percentis 25 e 75 como medidas de dispersão da população.

4.3.1.1. Efeitos dos níveis de luminosidade sobre o diâmetro pupilar

As respostas de reflexo pupilar para *flashes* de 100 ms são compostas por uma fase de constrição rápida seguida por uma fase de dilatação lenta, ambas exibindo uma dependência significativa dos níveis de luminância. A Figura 51A mostra esta dependência em experimentos realizados com três corujas. À medida que a luminância do estímulo se torna maior, o diâmetro pupilar tende a diminuir até atingir um ponto de saturação, que ocorre para valores de luminância acima de 32 cd/m^2 (linha pontilhada no gráfico). Na condição de quase-escuro, o diâmetro da pupila para as corujas 1 (Figura 51B), 2 (Figura 51C) e 3 (Figura 51D) foi de 10,2 mm [9,8-10,4], 9,2 mm [9,4-8,7] e 10,3 [9,9-10,5], respectivamente. Para o nível de luminância máxima foram encontrados diâmetro de 4,3 mm [4,1-4,5] para coruja 1, 4,3 mm [3,9-4,5] para coruja 2 e 4,8 mm [4,7 - 5,0] para coruja 3. Essas mudanças nos tamanhos das pupilas no escuro e no máximo nível de luminância causam, em média, uma redução de 4,8 vezes na iluminância da retina para as três corujas.

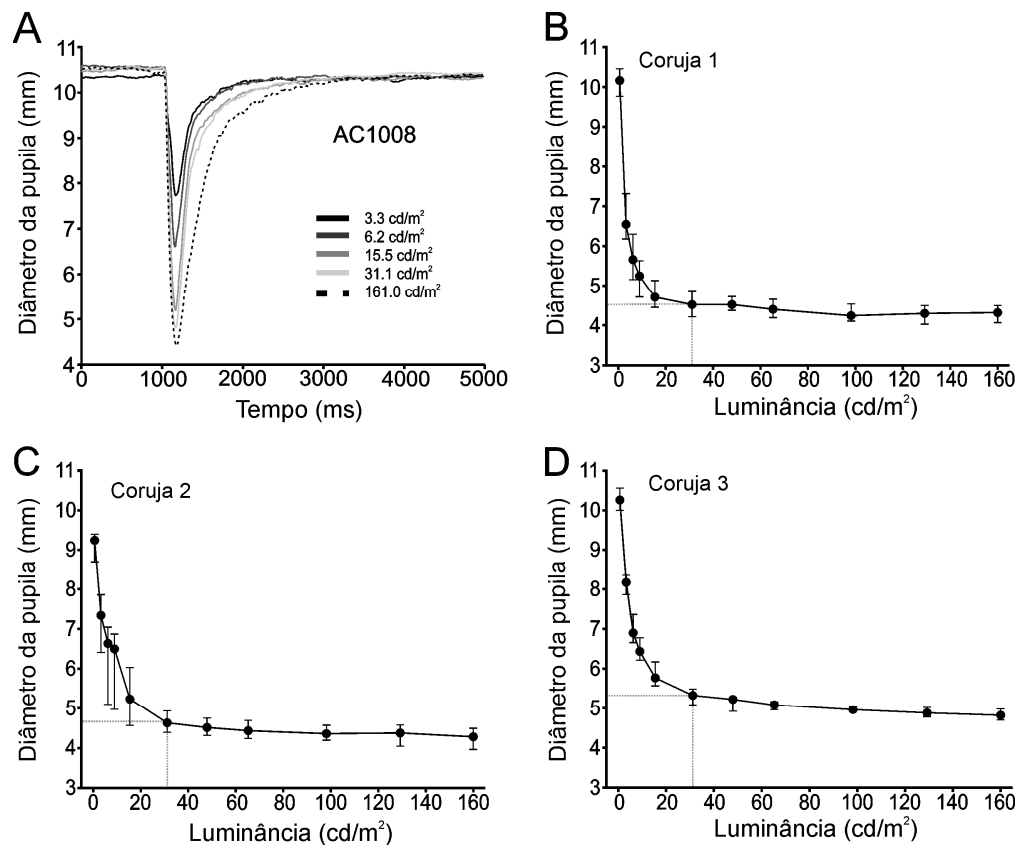


Figura 51 – Diâmetro pupilar em função do nível de luminância.

(A) Curvas de RPL para variados níveis de luminância. (B-D) Constricção pupilar em três corujas distintas apresentando uma saturação acima de 30 cd/m² em todos os casos. .

4.3.1.2. Efeitos dos níveis de luminosidade sobre a latência da constricção pupilar

A latência para constricção pupilar, ao contrário do que é em geral reportado para os mamíferos e aves, mostrou uma variação pequena, de 33-58 ms. Curiosamente, esses valores de latência independem da luminância (Figura 52A).

Essa característica é perceptível na Figura 52B, onde estão plotadas as latências estimadas para todos os ensaios de gravação em função do nível de luminância. Como pode ser visto, a maioria dos valores são iguais a 42 ou 50 ms em todas as condições de luminância. No entanto, observa-se uma inversão da proporção entre estes dois valores de latência em função da luminância: para 3,2 cd/m², em 34% dos ensaios a latência foi de 42 ms e, em 64% dos ensaios, a latência foi de 50 ms, enquanto que para 160 cd/m², em 65% e 29% dos ensaios, as latências foram 42 ms e 50 ms, respectivamente (Figura 52C). Ensaios com valores de latência de 33 ms também tendem a aumentar com a luminância (barras pretas na Figura 52B). Este resultado sugere que a latência tende a diminuir com o aumento da luminância, embora este decremento tenha sido de apenas 8 ms, aproximadamente. No entanto, é importante ressaltar que essa diferença é causada apenas por um quadro.

Considerando que os dados foram adquiridos em uma frequência de 120 Hz, não pode ser ignorado o fato de que a discrepância observada possa ser atribuída à resolução temporal do sistema. Assim, deve-se considerar a possibilidade de que os valores de latência sejam iguais para todos os níveis de luminosidade, um comportamento não relatado nas referências consultadas.

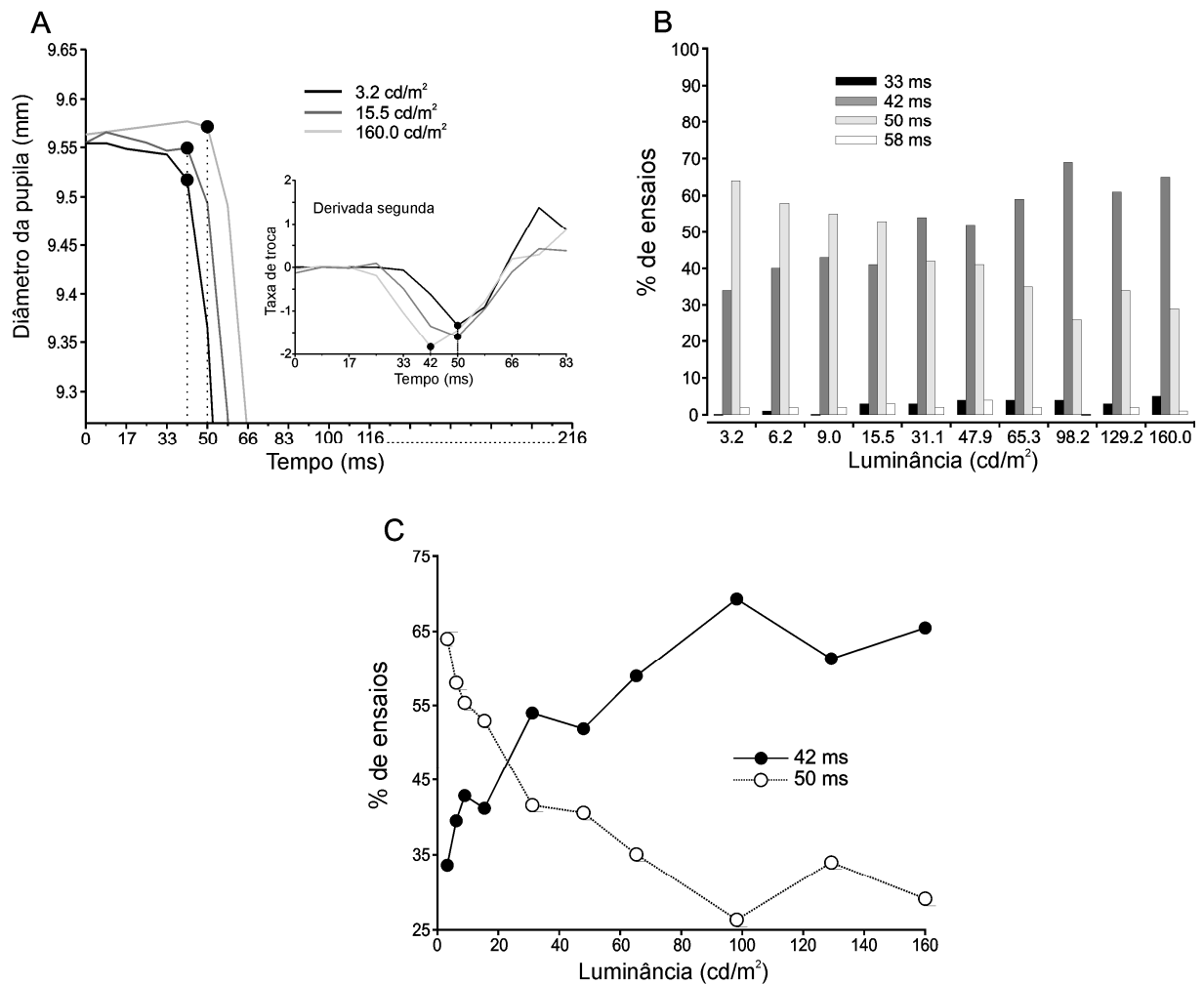


Figura 52 – Valores de latência estimados em todos os *trials* e corujas.

(A) Primeiros 70 ms após o início do estímulo. Círculos cheios (preto) indicam os valores de latência determinados pelo cálculo derivada segunda (gráfico interno). (B) Histograma de todos os valores de latência obtidos em três corujas submetidas a diferentes níveis de luminosidade. Note-se que para um mesmo nível de luminosidade obteve-se quatro valores distintos latência, mas com diferentes proporções. (C) Com o aumento dos níveis de luminosidade, a porcentagem de ensaios com valores de latência igual a 50 ms tende a diminuir, enquanto que a porcentagem de ensaios com valores de latência igual a 42 ms tende a aumentar.

4.3.1.3. Efeitos dos níveis de luminosidade sobre constrição e dilatação pupilar

Tempos de constrição e dilatação também estão correlacionados com níveis de luminosidade. De modo geral, nas três corujas, o tempo de constrição tendeu a aumentar com luminância mostrando tempos de saturação acima de 30 cd/m^2 (Figura 53A, C e E).

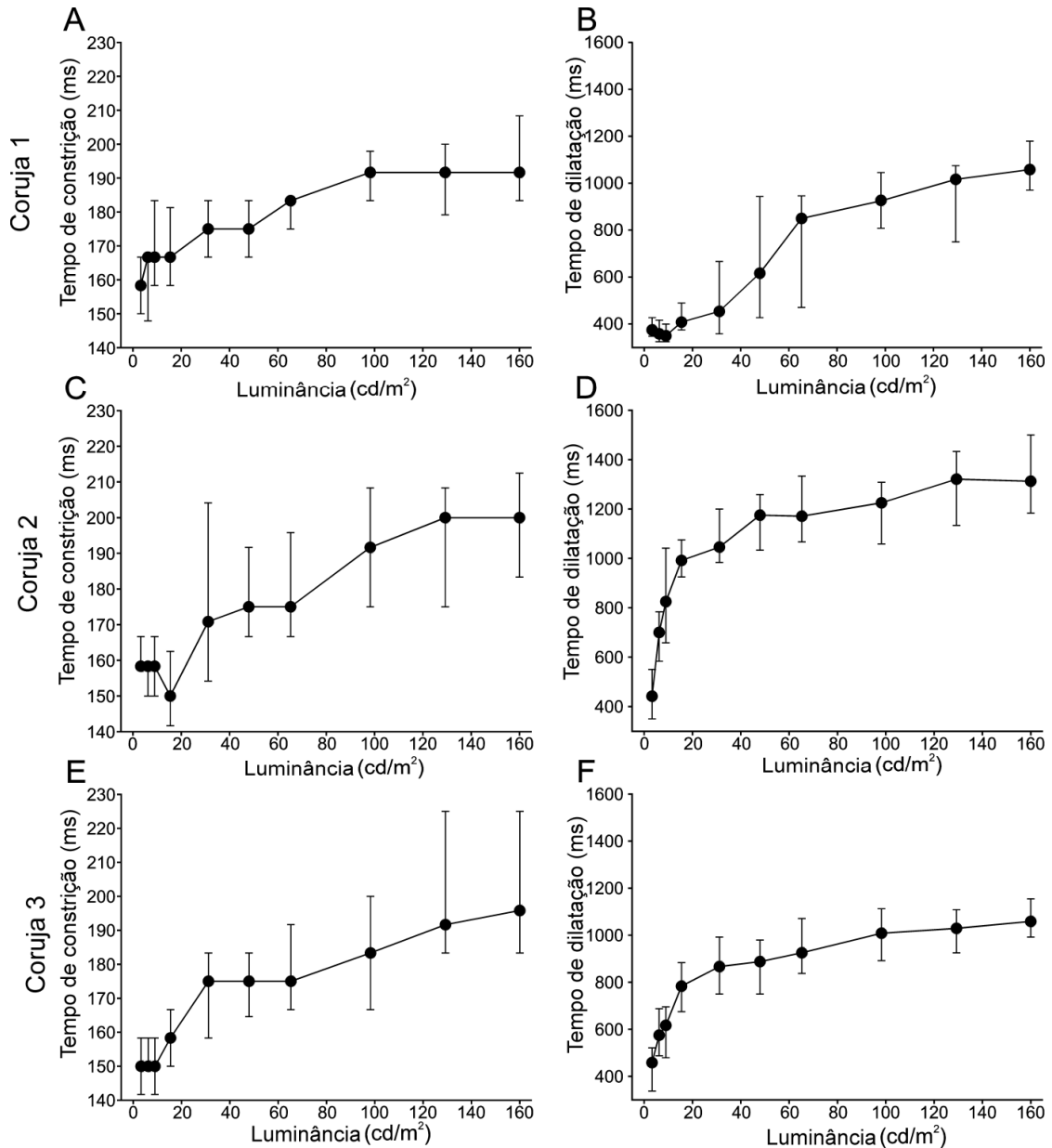


Figura 53 - Constrição e duração do tempo dilatação conforme níveis de luminosidade.

Os gráficos à esquerda mostra os períodos de constrição (A, C e E), enquanto os da direita mostram os períodos de dilatação (B, D e F) em três corujas. Notar que os valores de ambos tendem a saturar para estímulos acima de 30 cd/m^2 .

Para a menor luminosidade testada (3,2 cd/m^2), o tempos de constrição detectados foram de 158 ms [150-167], 158 ms [158-167] e 150 ms [142-158] nas corujas 1, 2 e 3, respectivamente. Para o nível de luminância máxima (160 cd/m^2), foram detectados os tempos

de 192 ms [183-208] na coruja 1, 200 ms [183-212] na coruja 2 e 196 [183-225] na coruja 3. Em relação ao tempo de dilatação (Figura 53B, D e F), a saturação pupilar foi mais aparente, e também ocorreu após 30 cd/m^2 nas corujas 2 e 3, e de 60 cd/m^2 na coruja 1. Para o nível mais baixo de luminância, os tempos de dilatação foram quase 3 vezes maiores do que de constrição, com valores variando entre 375 ms a 458 ms. Para o maior nível de luminância utilizado, foram encontrados valores que variaram de 1058 ms para 1312 ms, um aumento de 5,5 vezes quando comparado ao tempo de constrição.

4.3.1.4. Efeitos dos níveis de luminosidade sobre as velocidades de constrição e dilatação pupilar

Como pode ser visto na Figura 54, as curvas de velocidade de constrição e de dilatação se assemelharam à forma das curvas de tempo de constrição e dilatação. Como as outras métricas, a velocidade mostrou uma saturação marcante para estímulos acima de 30 cd/m^2 , tanto nas fases de constrição quanto nas fases de dilatação.

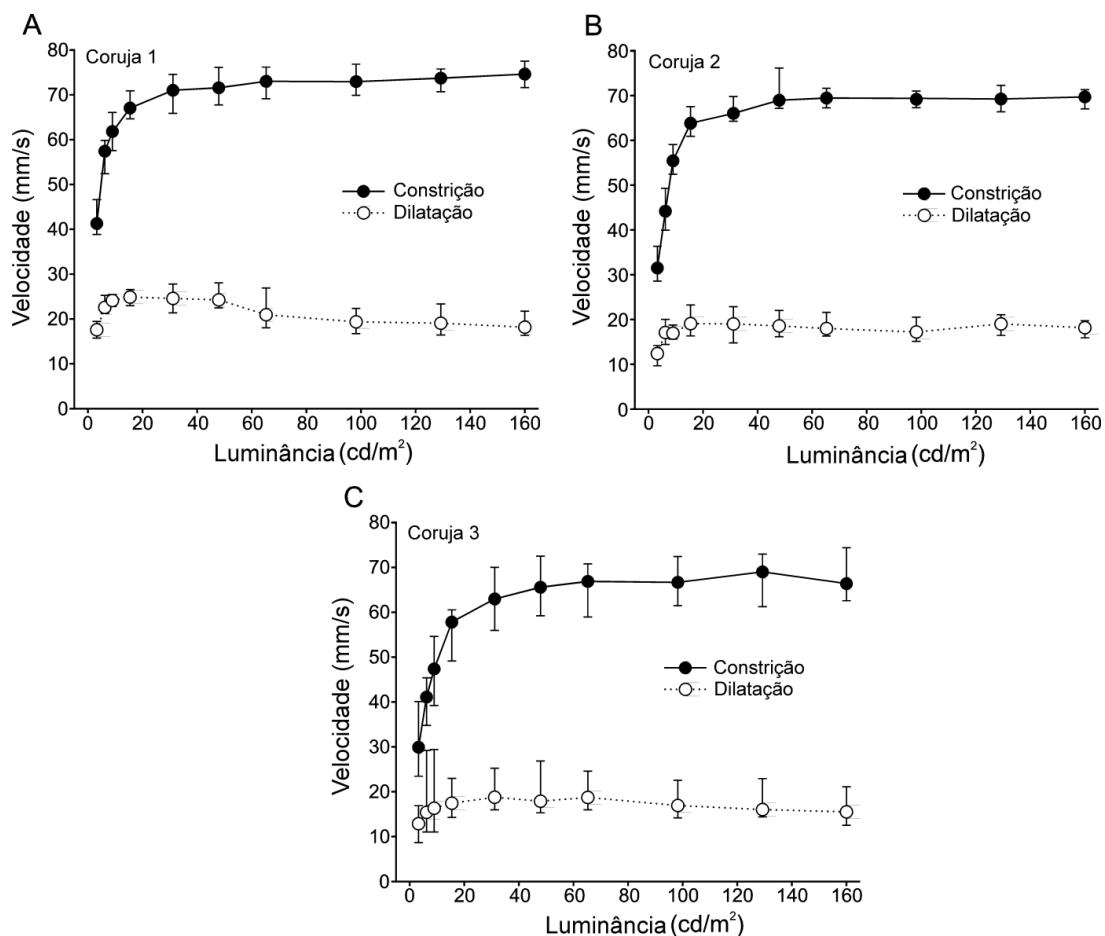


Figura 54 - Velocidade de constrição e dilatação pupilar em corujas submetidas a diferentes níveis de luminância. As linhas sólidas com círculos cheios e as linhas pontilhadas com círculos vazios indicam velocidades de constrição e dilatação, respectivamente. A saturação é observada para valores de luminância acima de 30 cd/m^2 .

Nas três corujas, os valores de velocidade de constrição variaram de 30 a 40 mm/s para o estímulo de mais baixa luminância e, de 66 mm/s para a cerca de 75 mm/s, para o estímulo mais elevado. Como esperado, as velocidades de dilatação foram inferiores às de constrição, resultando em velocidade de 17 mm/s [16-19] na coruja 1, 13 mm/s [10 - 14] na coruja 2 e 13 mm/s [9 - 16] e na coruja 3 na mais baixa luminância. Para a luminância máxima testada, foram encontrados 19 mm/s [16-22], 18 mm/s [16 - 20] e 16 mm/s [13-21] nas corujas 1, 2 e 3, respectivamente. Esses valores indicam que o reflexo pupilar à luz na coruja buraqueira é de cerca de sete vezes mais rápido do que em primatas, fato que pode ser explicado também pela presença de musculatura estriada na íris da coruja, em oposição a músculos lisos em mamíferos.

4.4. Discussão

O presente estudo descreve um exemplo de plataforma configurável para aquisição de imagens descrito no item 3.4.2, tendo como objeto de estudo a caracterização quantitativa da resposta pupilar da coruja buraqueira em função da luminância.

Com a reconfiguração da plataforma, foi possível avaliar seis métricas distintas derivadas do RPL: constrição máxima da pupila, latência, tempo de constrição e de dilatação, velocidades de constrição e de dilatação.

O reflexo pupilar à luz é constituído de uma fase de constrição rápida seguida por uma fase de dilatação lenta, ambas correlacionadas com os níveis de luminosidade, sendo observada uma saturação acima de 32 cd/m². Entretanto, a latência para constrição pupilar, ao contrário do que é em geral reportado para os mamíferos e aves, é restrita, variando de 33-58 ms e, além disso, os valores de latência são independentes da luminância.

A plataforma configurável para aquisição de imagens, na sua versão fixa, descrita no item 3.4.2, mostrou-se adequada para aplicações onde se faz necessária a estimulação visual sem que haja obstrução do campo de visão do sujeito/animal de experimentação. Nessa situação, devido ao posicionamento da câmera há um afastamento entre sujeito-câmera que é compensado por uma lente de abertura e foco ajustável. Além disso, há um largo espectro de resposta do sensor da câmera, que trabalha tanto no espectro infravermelho, característico para experimentos escotópicos, quanto no espectro visível, caso em que se enquadra este experimento.

Devido à natureza deste experimento, em que o estabelecimento do sincronismo entre estimulação e captura de imagem é imprescindível (descrito no item 3.4.2) o sistema mostrou-se versátil e eficiente, permitindo que o início da captura de quadros de cada ensaio fosse disparado de forma sincronizada com o início da estimulação visual.

As mudanças mais significativas no *software* ocorreram no módulo de análise de pupila *offline*. Embora a estrutura do processamento, constituída de segmentação e estimação, seja a mesma para olho de coruja buraqueira e de humano, as especificidades do olho avaliado impõem limitações ou até mesmo simplificações nas etapas de processamento. Destaca-se de forma positiva para o algoritmo de processamento de imagens a estaticidade do olho, pois permite a pré-estimação da posição da pupila no quadro seguinte. Esta pré-estimação da posição é determinante principalmente após um evento de fechamento de pálpebra ou durante a movimentação da membrana nictitante, pois baseado na média de posição da pupila dos quadros anteriores é possível pré-estimar a região central da pupila que será utilizada pelo algoritmo de busca da pupila. Outro fator importante para a estimação é a fonte única de iluminação da cena. Vale lembrar que seu efeito colateral, provocado pelo reflexo da córnea (Figura 28A), é totalmente suprimido em função de uma única fonte e sua taxa de ocupação na pupila é muito pequena (Figura 30A e B). Esta característica suprime erros de estimação muito comuns, que são característicos em aplicações envolvendo humanos. A inexistência do limbo corneal na imagem capturada pelo sistema garante a presença de apenas um único círculo (pupila) na cena, o que também não é comum na imagem do olho humano.

Em contrapartida, a membrana nictitante gera ruídos que comprometem a identificação da pupila (Figura 32C). Os eventos de fechamento e abertura da membrana nictitante podem provocar um falso evento de piscamento, que compromete as estatísticas relacionadas ao piscamento. Entretanto, o comportamento mais crítico no olho da coruja é a dinâmica das pálpebras. Para o olho humano, durante o evento de piscamento ou mesmo de olho semiaberto, na maioria das vezes, a região inferior da pupila encontra-se descoberta, disponibilizando ao algoritmo de busca o semicírculo inferior da pupila, livre de ruídos. Já no olho da coruja, devido aos movimentos das pálpebras superior e inferior, condições mais severas são impostas ao algoritmo de estimação (Figura 32A) e, em alguns casos, até mesmo a impossibilidade de estimação.

Dentre as seis métricas estabelecidas para estudo neste experimento, constrição máxima da pupila, latência, tempo de constrição, tempo de dilatação, velocidades de constrição e de dilatação, apenas a primeira não é dependente da resolução temporal do

sistema. Considerando que a taxa de amostragem do sistema é de 120 Hz, o que gera uma resolução temporal de 8,33 ms, as métricas que envolvem tempos muito pequenos podem gerar erros significativos. Para o caso do tempo de latência de constrição pupilar, cujos experimentos permitiram obter tempos na faixa de 33 a 58 ms, medidas com imprecisão temporal de um quadro geraram erros de 24,24 % e 13,97 %, respectivamente. Para os tempos mais altos como constrição pupilar de 158 ms e dilatação pupilar de 375 ms, para imprecisão temporal de um quadro, os erros foram de 5,06 % e 2,13%, respectivamente, demonstrando uma ordem de grandeza menor. Para experimentos desta natureza, este é o ponto de maior fragilidade desta plataforma, entretanto é possível minimizar tal problema utilizando câmeras (Firewire) com taxas de amostragem mais elevadas, que utilizam o padrão IEEE 1394b e tem uma banda de transmissão de 800 Mbps (Association, 2004). Uma solução alternativa para banda de 400 Mbps, que corresponde ao padrão IEEE 1394a utilizada na câmera FireFly MV, é reduzir a resolução espacial para permitir um aumento na resolução temporal.

Dentro das características e limitações desta configuração da plataforma de aquisição de imagens, diversos experimentos poderão ser realizados tais como avaliação do piscamento espontâneo e evocado (Vieira *et al.*, 2011).

CAPÍTULO 5 - LIMIAR PARA DISCRIMINAÇÃO OBJETIVA DE SONOLÊNCIA INDUZIDA POR PRIVAÇÃO DO SONO COM DISPOSITIVO DE ACESSO SIMULTÂNEO A MÚLTIPLOS INDICADORES.

Este capítulo apresenta um estudo piloto sobre avaliação de sonolência desenvolvido em parceria com o Departamento de Psicobiologia, com participação do doutorando Giuliano Emereciano Ginani, orientado pela Profa. Sabine Pompéia. Em sua introdução, é apresentada uma revisão bibliográfica abordando as principais técnicas aplicadas na quantificação da sonolência. Em seguida, é apresentada a metodologia adotada tanto nas coletas quanto na determinação dos indicadores aplicados na identificação da privação do sono. Para a obtenção dos indicadores foram realizadas modificações no protótipo portátil (item 3.4.1) que estão descritas no item 5.2.3. Finalmente, são apresentados os resultados deste trabalho com a respectiva discussão.

5.1. Introdução

Pesquisas realizadas pelo *Center for Narcolepsy, Sleep and Health Research da University of Illinois at Chicago Colleges of Nursing and Medicine* mostram que entre 40 e 70 milhões de americanos apresentam problemas de ordem crônica ou de intermitência do sono (Chicago, 2006). Esses problemas se manifestam independentemente do sexo, raça ou grupo socioeconômico, agravando-se com o avançar da idade. O desconhecimento, por parte do sujeito, do distúrbio do sono e a conseqüente falta de tratamento têm um forte impacto social, refletindo no aumento da morbidade e mortalidade, na baixa qualidade de vida, na menor produtividade e no comprometimento da segurança pública devido à alta incidência de acidentes relacionados com a sonolência excessiva (Curcio *et al.*, 2001).

A sonolência, tecnicamente denominada excessiva sonolência diurna (*Excessive daytime sleepiness* - EDS), é consequência do desequilíbrio de dois mecanismos (circadiano e da homeostase do sono) que controlam a sonolência fisiológica e vigília (Olejniczak *et al.*, 2004), sendo desencadeados por fatores exógenos e/ou endógenos.

Dentre os fatores exógenos, encontram-se diversos elementos tais como: jornada excessiva de trabalho, atividade de turno (Bjerner *et al.*, 1955) e ambientes agressivos, que interferem determinantemente em algumas atividades funcionais (direção veicular (Horne *and* Baulk, 2004; Horne *and* Reyner, 1996; Hu *and* Zheng, 2009; Morad *et al.*, 2009), operações

militares (Porcu *et al.*, 1998), práticas hospitalares (Wilhelm *et al.*, 2009) e tarefas de monitoramento (Bjerner *et al.*, 1955)).

Como fatores endógenos, destacam-se as principais desordens do sono: a insônia, a Síndrome da Apnéia Obstrutiva do Sono (SAOS), a narcolepsia e a síndrome da movimentação periódica dos membros (Olejniczak *et al.*, 2004). A insônia é a mais comum e pode ser de origem psicofisiológica ou idiopática, caracterizando-se pela dificuldade de iniciar ou manter o sono ou pelo sono não restaurador. A Síndrome da Apnéia Obstrutiva do Sono é de origem morfo-fisiológica e caracteriza-se pela fragmentação do sono devido à desordem respiratória. Já a narcolepsia é de origem neurológica e se caracteriza por um desejo incontrolável de dormir ao longo do dia, que pode ser acompanhada de cataplexia (perda do tônus muscular), alucinação visual ou hipnagógica (sonhar antes de entrar no estado de sono) e pela paralisia do sono (incapacidade de se movimentar ao acordar). A síndrome da movimentação periódica dos membros é também denominada de mioclonias noturnas. Caracteriza-se por movimentos repetitivos, estereotipados, principalmente dos membros inferiores, predominante durante o sono NREM (*Non-rapid eye movement*) (Olejniczak *et al.*, 2004).

Com objetivo de identificar problemas de sonolência, diversas técnicas foram desenvolvidas e classificadas, segundo sua natureza, em duas categorias distintas: subjetiva e objetiva (Figura 55) (Curcio *et al.*, 2001).

Os exames da categoria subjetiva são realizados por meio de questionários auto-avaliativos onde o sujeito indica, dentro de uma escala pré-estabelecida, o seu estado de sonolência para uma série de situações propostas.

Na categoria objetiva, a abordagem comportamental busca identificar a queda de desempenho nas tarefas com exigências atencionais, de esforço cognitivo ou controle motor. Já na abordagem fisiológica, analisam-se as variações espontâneas de diversos parâmetros fisiológicos (respiração, atividade cardio-vascular, oculomotora, atividade elétrica cerebral, condutância da pele e temperatura).

Segundo a classificação de Kamiya (1961) apud Curcio *et al.* (2001), existem quatro tipos de medidas possíveis de sonolência: subjetiva, queda de desempenho, propensão ao sono e queda no estado de alerta (Figura 55).

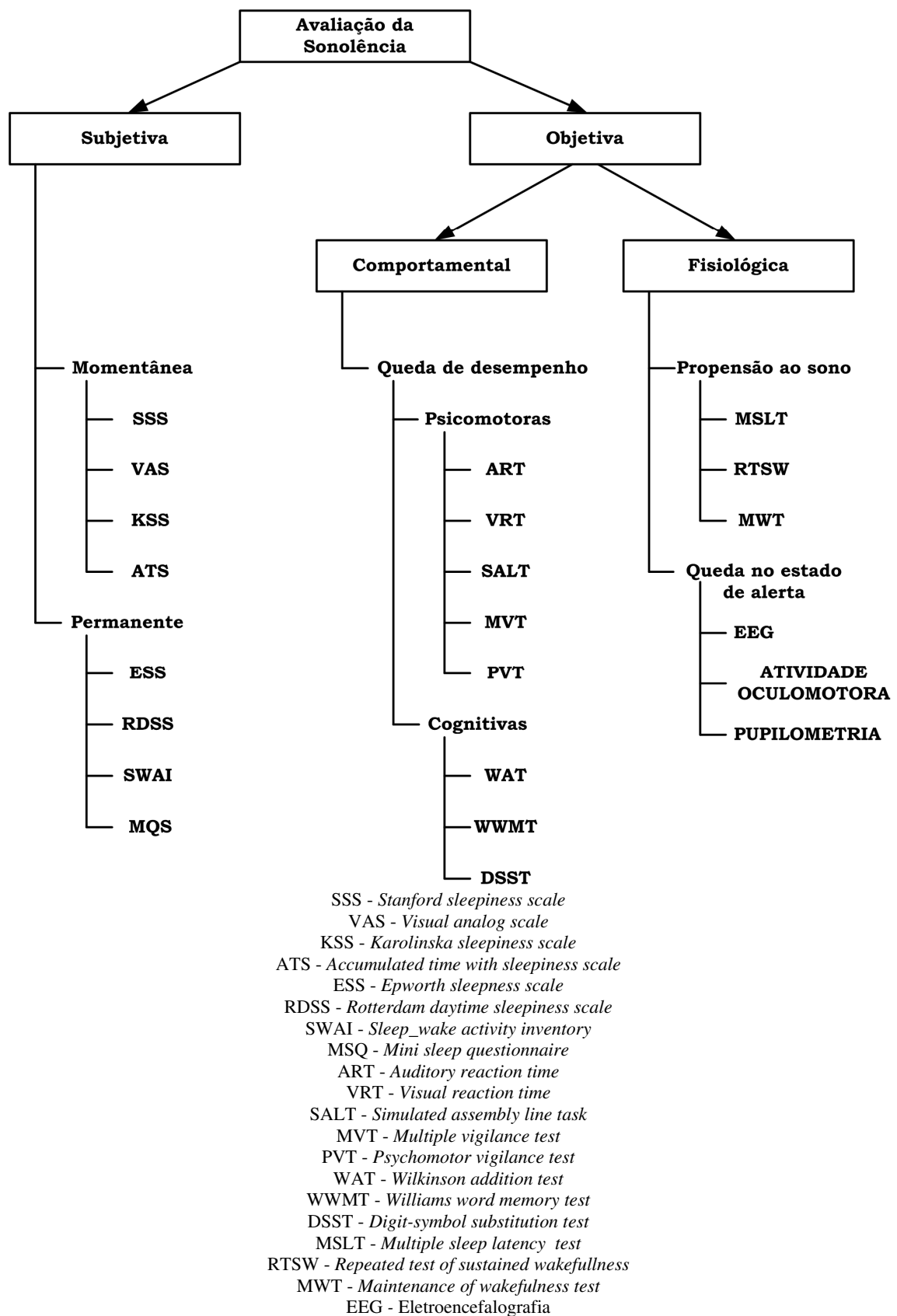


Figura 55 - Classificação das técnicas de avaliação sonolência.

Nas medidas subjetivas, são propostas duas condições: momentânea e permanente. Na condição momentânea, causada por situações atípicas (privação do sono), existem alguns

questionários para detecção da sonolência como o *Stanford Sleepiness Scale* (Hoddes *et al.*, 1973), *Karolinska Sleepiness Scale* (Kaida *et al.*, 2006), *Accumulated Time with Sleepiness Scale* (Gillberg *et al.*, 1994) e *Visual Analog Scale* (Monk, 1987). Esses questionários foram concebidos para aplicação em sujeitos com queixas de sono e por meio dos quais o paciente informa seu nível de sonolência. Na condição permanente é aplicado um questionário para análise de sonolência crônica. Entre os questionários existem o *Epworth Sleepiness Scale* (Murray, 2010), o *Rotterdam Daytime Sleepiness Scale* (Van Knippenberg *et al.*, 1995), *Sleep_wake Activity Inventory* (Johnson *et al.*, 1999), *Pittsburgh Sleep Quality Index* (PSQI) e o *Mini Sleep Questionnaire* (Melamed and Oksenberg, 2002). O principal problema da utilização das medidas subjetivas está na vulnerabilidade das variáveis envolvidas na análise, pois é muito comum o sujeito super ou subestimar suas impressões dependendo do seu estado psicofisiológico. Os questionários subjetivos não se limitam aos relacionados na Figura 55, incluem outros questionários como: *Profile of Mood States* (POMS), *Basic Nordic Sleep Questionnaire* (BNSQ), que não são específicos para avaliação do sono.

A medição de queda de desempenho é subdividida em dois tipos de tarefas: psicomotoras e cognitivas (Curcio *et al.*, 2001). Nas tarefas psicomotoras são executadas atividades atencionais simples em que são considerados os tempos de resposta para a estimulação visual (Wilkinson and Houghton, 1982) ou auditiva (Lisper and Kjellberg, 1972). Diversos são os exames de avaliação: *Auditory reaction time* (Lisper and Kjellberg, 1972), *Visual reaction time* (Wilkinson and Houghton, 1982), *Simulated assembly line task* (Walsh *et al.*, 1992), *Multiple vigilance test* (Hirshkowitz *et al.*, 1993), *Psychomotor vigilance test* (Basner and Dinges, 2011) (Figura 55). Já nas tarefas cognitivas são avaliadas atividades atencionais que envolvem memória, lógica e aritmética, sendo realizadas por meio dos seguintes testes: *Wilkinson addition test* (Wilkinson, 1968), *Williams word memory test* (Williams *et al.*, 1966), *Digit-symbol substitution test* (McLeod *et al.*, 1982) (Figura 55). O principal problema das medidas de queda de desempenho está na sua abordagem comportamental, que é extremamente dependente do estado motivacional do indivíduo, do ambiente e da metodologia utilizada no teste. Sua grande vantagem é a fácil aplicabilidade das técnicas (Curcio *et al.*, 2001). Dentre as técnicas de avaliação da queda de desempenho, o *Psychomotor vigilance test* (PVT) é o teste mais amplamente utilizado, devido a sua alta sensibilidade à privação do sono (Basner and Dinges, 2011).

A medida objetiva de propensão ao sono tem o *Multiple Sleep Latency Test* (Carskadon and Dement, 1979) como o teste mais conhecido e reconhecido. Por meio dele, é

quantificado o nível de sono do sujeito baseado nas medidas polissonográficas, onde são medidos os tempos para iniciar o sono (latência do sono) com base no sinal da Eletroencefalografia. Algumas variações do MSLT foram desenvolvidas como o *Repeated test of Sustained Wakefulness* e *Maintenance of Wakefulness Test* (Mitler *et al.*, 1982) (Figura 55). A medida de propensão ao sono é um importante marcador para diagnóstico de patologias do sono entretanto são exames limitados a ambientes clínicos e relativamente demorados.

Os parâmetros relativos à redução do estado de alerta podem ser obtidos por meio de: Eletroencefalografia (Torsvall *et al.*, 1989), atividade oculomotora (Caffier *et al.*, 2003; Morris and Miller, 1996; Stern *et al.*, 1994) e a pupilometria (Lowenstein *et al.*, 1963; Morad *et al.*, 2000). Nesse contexto, a pupilometria é a técnica mais utilizada, pois, além de ser confiável por se basear em indicadores vinculados ao sistema nervoso autônomo (SNA) (Wilhelm *et al.*, 1998), é uma técnica não invasiva, de simples aplicação e apresenta um baixo custo em relação ao MSLT.

Dentre as diversas técnicas apresentadas na Figura 55, o *Multiple Sleep Latency Test*, que se baseia na polissonografia, vem sendo adotado como referência (padrão ouro) na quantificação objetiva da sonolência e no diagnóstico da narcolepsia (Bitsios *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2008; Merritt *et al.*, 2004; Prasad *et al.*, 2011). Alguns de seus parâmetros também são utilizados como referência para outras técnicas de medição de sonolência (Wilhelm *et al.*, 2009; Wilhelm *et al.*, 1998). Entretanto, a necessidade de equipamentos, profissionais especializados e ambientes adequados para realização do MSLT, têm inviabilizado economicamente sua utilização em larga escala.

Nos últimos anos, alguns estudos vêm sendo realizados e propostos como alternativos ao MSLT na quantificação objetiva do sono, utilizando dispositivos portáteis que viabilizam aplicações em ambientes externos como locais de trabalho. Dentre as tecnologias existentes, encontram-se os equipamentos que monitoram a atividade oculomotora e se baseiam nos parâmetros do piscamento tais como: tempo de duração do piscamento, tempo de fechamento e abertura de pálpebra (Caffier *et al.*, 2003) e frequência de piscamento (Caffier *et al.*, 2003, 2005; Divjak and Bischof, 2009; Stern *et al.*, 1994). Já para monitoramento da oscilação do diâmetro pupilar encontram-se os pupilômetros (Nakayama *et al.*, 2008; Wilhelm *et al.*, 2009), sendo o PST (*pupillographic sleepiness test*), cujo indicador é o PUI (*pupil unrest index*), a técnica utilizada com maior frequência. Entretanto, o PST é aplicado em conjunto com outras técnicas como: *Epworth Sleepiness Scale*, *Psychomotor vigilance test* e *Multiple*

Sleep Latency Test (Franzen *et al.*, 2008; Prasad *et al.*, 2011), buscando estabelecer uma correlação entre elas. Devido às especificidades para aplicação de cada uma das técnicas, elas são realizadas em momentos distintos, o que pode levar a diferentes condições psicofisiológicas do sujeito.

A equalização de condições psicofisiológicas (ansiedade, humor, atividade cardiovascular, oculomotora, atividade elétrica cerebral, dentre outras) na coleta de múltiplos indicadores já foi realizada por Bernhardt *et al.* (1996), num estudo aplicado em psicologia social. Nesse experimento, foi integrado um *eyetracker* comercial ISCAN modelo RK-426 (ISCAN, Cambridge, MA) e um computador pessoal possibilitando que a estimulação visual e/ou auditiva fosse realizada com o monitoramento simultâneo do diâmetro da pupila. Mais recentemente, num estudo piloto para determinação do estado de sedação do paciente, Patil *et al.* (2007) integraram em um único dispositivo a fonte de estimulação visual, uma câmera (*webcam*) para monitoramento da pupila e um sistema de gravação de áudio para avaliação da fala.

No presente estudo, foi aplicada esta mesma abordagem para o estudo da privação de sono. A primeira etapa envolveu a construção de um dispositivo que monitora a dinâmica da pupila e da pálpebra, com capacidade de avaliação simultânea do tempo de reação do sujeito a um estímulo visual. A característica principal deste dispositivo é seu baixo custo associado à simplicidade de hardware/software do dispositivo proposto em Patil *et al.* (2007), com resolução temporal e espacial superiores a encontrada no dispositivo descrito em Bernhardt *et al.* (1996), este último fundamentado em plataformas proprietárias de alto custo. Numa segunda etapa, foi realizado um estudo piloto com os seguintes objetivos: (1) avaliar o potencial do dispositivo, que permite extrair simultaneamente três indicadores distintos: lapsos, potência de oscilação da pupila e eventos de piscamento que podem trabalhar de forma colaborativa e redundante; (2) Investigar a viabilidade do estabelecimento de limiares para estes indicadores, que propiciem a identificação robusta da privação do sono.

5.2. Materiais e métodos

5.2.1. Sujeitos

A amostra consistiu de 19 indivíduos saudáveis do sexo masculino, com idade entre 18 e 30 anos, com um mínimo de 12 anos de escolaridade. Todos tinham como primeira língua o Português. Os sujeitos não tinham problemas psiquiátricos, incluindo dependência de drogas

ou problemas clínicos, que poderiam interagir com os efeitos da privação do sono, tais como epilepsia, distúrbios de aprendizagem, distúrbios do sono (confirmada pela polissonografia), e nem auditivos ou déficits visuais não corrigidos. Nenhum dos indivíduos era trabalhador de turno ou viajou em vôos transmeridianos no mês anterior ao experimento, para evitar possíveis distúrbios dos ritmos circadianos. Eles tinham um índice de massa corporal entre 20 e 25, eram não fumantes, não estavam submetidos a medicação no momento do estudo e consumiam menos de 200mg de cafeína por dia. Os voluntários não estavam nos extremos da dimensão cronotipo medido pelo questionário de Horne e Östberg (Benedito-Silva *et al.*, 1990; Horne *and* Ostberg, 1976) que avalia o padrão do ritmo circadiano da pessoa que pode ser matutino, vespertino ou indiferente, e tinham um padrão de sono normal, isto é, eles dormiam 6-9horas/noite e, geralmente, adormeciam entre as 23:00h e 01:00. Todos eles tiveram escores na faixa normal no teste de inteligência não-verbal Matrizes Progressivas de Raven (Raven *et al.*, 1988).

5.2.2. Procedimento

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP; 0763/10) e todos os sujeitos assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Para a seleção dos voluntários foi realizada uma entrevista estruturada, incluindo histórico clínico, escalas de depressão e ansiedade (*STAI-Trait scale*ver (Gorenstein *et al.*, 1995; Spielberger *et al.*, 1970) e *Beck Depression Inventory*ver (Beck *et al.*, 1961; Gorenstein *et al.*, 1995)), sonolência (*Epworth Sleepiness Scale* (Johns, 1991)), triagem para distúrbios do sono e cronotipo (questionário de Horne *and* Östberg; (Benedito-Silva *et al.*, 1990; Horne *and* Ostberg, 1976)).

Com o objetivo de monitorar a rotina de sono da semana anterior ao experimento, os voluntários usaram o actígrafo (Motionlogger Actigraph/Octogonal Basic, Ambulatory Monitoring, Inc., Ardsley, NY, USA) e preencheram um diário de sono. Segundo Telles *et al.* (2011), com este equipamento é possível realizar um levantamento dos períodos de sono e vigília do sujeito para estudo do ciclo sono-vigília e do ritmo circadiano.

No dia do experimento, os voluntários chegaram ao laboratório por volta das 7:00 h e ingeriram um desjejum padronizado, sem cafeína, que não esteve disponível em todo o período seguinte de 36 h, durante o qual os participantes permaneceram acordados sob supervisão contínua. Sessões de testes com duração de aproximadamente uma hora, começaram uma hora após a chegada dos participantes, a fim de evitar os efeitos da inércia no

desencadeamento do sono, e foram repetidas a cada 4 horas, totalizando 10 sessões até as 20:00 h do dia seguinte. A temperatura e a luminosidade da sala de testes foram mantidas constantes durante todo o experimento. Os participantes tiveram acesso a estímulos externos, como o brilho e a hora do dia, embora eles não pudessem deixar o ambiente de laboratório. Refeições padronizadas foram realizadas às 7:00, 13:00 e 19:00 h, com lanches entre estes períodos.

5.2.3. Sistema integrado de estimulação visual e de aquisição de imagens

O sistema (Figura 56) desenvolvido para este experimento é uma adaptação do protótipo portátil, descrito no item 3.4.1, que permite a integração da pupilometria com o PVT. O protótipo portátil originalmente projetado para ensaio pupilométrico é constituído de um computador pessoal (Figura 56A) e uma máscara de mergulho (Figura 56B) onde se encontra adaptada uma câmera.

Para integração do PVT, que mede o tempo de reação do sujeito mediante um estímulo visual, foi inserido ao protótipo um botão de resposta (Figura 56C). Durante o experimento o botão é mantido em uma das mãos do sujeito, segundo sua preferência, e deve ser pressionado na ocorrência da estimulação visual.

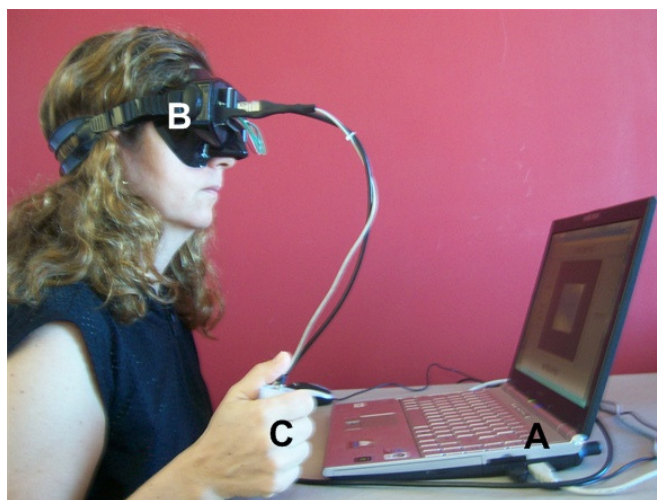


Figura 56 - Sistema integrado de estimulação visual e de aquisição de imagens.
(A) Microcomputador utilizado para controle do ensaio assim como recepção e armazenamento de dados; (B) Máscara com câmera de vídeo; (C) Botão de resposta ao estímulo visual. Exemplificação típica de preparação de um sujeito para realização de ensaio: colocação da máscara, posicionamento em frente ao terminal de vídeo e sustentação do botão de resposta ao estímulo visual.

O protótipo portátil monocular foi projetado originalmente para monitorar o olho direito do sujeito com iluminação da cena realizada por fontes de luz IR (Figura 57), conforme descrito no item 3.4.1.

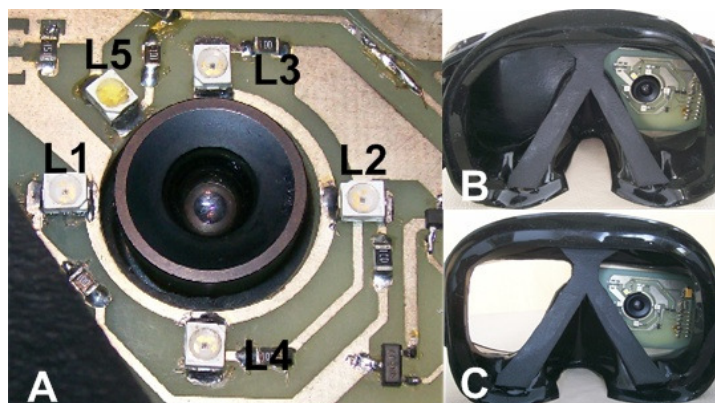


Figura 57 - Iluminação e estimulação.

(A) Placa de circuito impresso com câmera, LEDs IR (L1, L2, L3 e L4) de iluminação e estimulação (dupla função). O LED branco L5 é utilizado para estimulação visual no espectro visível. (B) Manutenção do ambiente escotópico com tampão e placa de circuito impresso com câmera; (C) Janela para observação da estimulação visual na tela do computador.

No ensaio exclusivo de pupilometria, a lente esquerda da máscara foi substituída por um tampão opaco (Figura 57B) para garantir o ambiente escotópico. Entretanto, para viabilizar a integração com o PVT, situação em que o sujeito necessita de um evento visual para disparar a atividade motora (apertar o botão), o tampão foi retirado (Figura 57C). Para minimizar uma possível modulação da pupila devido ao estímulo visual, diferentemente do cronômetro utilizado originalmente no VRT (*visual reaction time*), descrito em Dinges and Powell (1985), foi adotada uma estimulação IR, que só é percebida pelo sujeito na imagem capturada pelo sistema. Os dois LEDs IR (L1 e L2 Figura 57A), dispostos horizontalmente na placa de circuito impresso, são utilizados inicialmente para iluminação da cena. Entretanto, devido à sensibilidade da câmera ao IR, na imagem dois pontos (Figura 58A) são formados sobre a pupila, que correspondem ao reflexo da córnea aos respectivos feixes dos LEDs IR. O início da estimulação ocorre quando a fonte de iluminação passa dos LEDs dispostos horizontalmente (L1 e L2 - Figura 57A) para os LEDs dispostos verticalmente (L3 e L4 - Figura 57A) resultando na imagem da Figura 58B. Esta estimulação é extinta quando o sujeito pressiona o botão (voltando para a iluminação de L1 e L2).

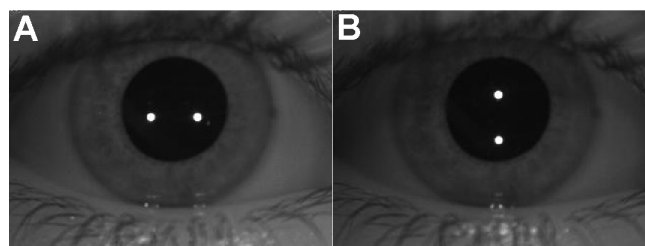


Figura 58 – (A) Iluminação da cena e respectivo reflexo corneal. (B) Iluminação da cena e início da estimulação visual.

A iluminação da cena assim como a estimulação visual é comanda pelo software, via canais de $I/O_{1,2}$ (padrão elétrico TTL - *transistor-transistor logic*) presentes na câmera. Por outro lado, a captura da resposta ao estímulo é realizada por meio do canal I/O_0 . Todos estes sinais são gravados numa região da imagem juntamente com um *timestamp* que é um marcador de tempo do instante da captura do quadro.

5.2.4. Métricas do PVT e da pupilometria

Dentre as métricas fornecidas pelo sistema têm-se: as medidas de tempo de reação, lapsos, falsos inícios e falsas detecções que são característicos do PVT (Basner *and* Dinges, 2011; Kim *et al.*, 2007; Lee *et al.*, 2010), a curva de diâmetro da pupila (Bradley *et al.*, 2005; Bremner, 2009), informadas em pixel ou valor absoluto, e os parâmetros da dinâmica palpebral (Caffier *et al.*, 2003; Stern *et al.*, 1994), que são próprias da pupilometria.

5.2.4.1. Metodologia e métricas do PVT

A metodologia aplicada para obtenção das métricas do PVT, neste sistema, apresenta peculiaridades em sua forma, diferenciando-a dos demais ensaios de PVT. Entretanto o ensaio segue o procedimento básico de um teste psicomotor constituído basicamente de apresentação de um estímulo visual e monitoramento da reação motora do sujeito. Neste sistema, o controle do experimento é determinado por quatro tempos distintos, sendo estes configuráveis pelo usuário: Ensaio, Janela, Max_Reação e Leitura. O tempo Ensaio define a duração total da gravação, que é dividida em sessões denominadas *trials*. Já um *trial* é iniciado com a estimulação visual gerada em um tempo aleatório de 0 a 8 s, sendo o limite superior deste intervalo configurado na variável Janela. Em seguida, é monitorada a reação motora do sujeito, onde é registrado o intervalo de tempo percorrido entre a estimulação visual e a resposta do sujeito. A variável Max_Reação controla o tempo máximo em que o sistema mantém o estímulo presente (LEDs na vertical ligados). Um *trial* é finalizado com a apresentação em tela do respectivo tempo de reação ao estímulo, para que o sujeito acompanhe seu desempenho. A variável Leitura determina o tempo de permanência desta informação na tela. O procedimento de um *trial* se repete até que seja atingido o tempo total da gravação.

Na Figura 59 é mostrado um intervalo de captura relativo ao início de um *trial* com os sinais envolvidos na avaliação do tempo de reação. O gráfico é constituído de três sinais: LED (linha pontilhada: indica o estado dos LEDs dispostos na vertical L3 e L4 (Figura 57A),

nível lógico alto se ligados e nível lógico baixo se desligados, ressaltando que os LEDs dispostos na horizontal (Figura 57A) atuam de forma inversa aos LEDs disposto na vertical), Botão (linha contínua com tom cinza: nível lógico baixo durante botão pressionado) e do sinal Início (linha contínua preta). As amplitudes destes sinais são representas pelo nível lógico (alto/baixo).

O sinal Início é responsável pela indicação de um novo *trial* sendo sua sinalização feita por um pulso (nível alto) de 8,33 ms (Figura 59A). A partir desse pulso, num tempo aleatório entre 0 e 8 s, os LEDs dispostos na vertical que encontram-se apagados (nível baixo sinal LED) são ligados gerando o estímulo visual (Figura 59B). O sinal Botão se mantém em nível lógico alto até que o sujeito responda ao estímulo pressionando o botão (Figura 59C). Ao detectar o botão pressionado, o software de monitoramento retira a estimulação com o apagamento dos LEDs dispostos na vertical (Figura 59D). O intervalo existente entre as descidas dos sinais Botão (Figura 59C) e LED (Figura 59D) representa a latência do sistema e corresponde ao tempo entre dois quadros do filme. Esse valor é dependente do número de FPS (*frames per second*) configurado para a coleta.

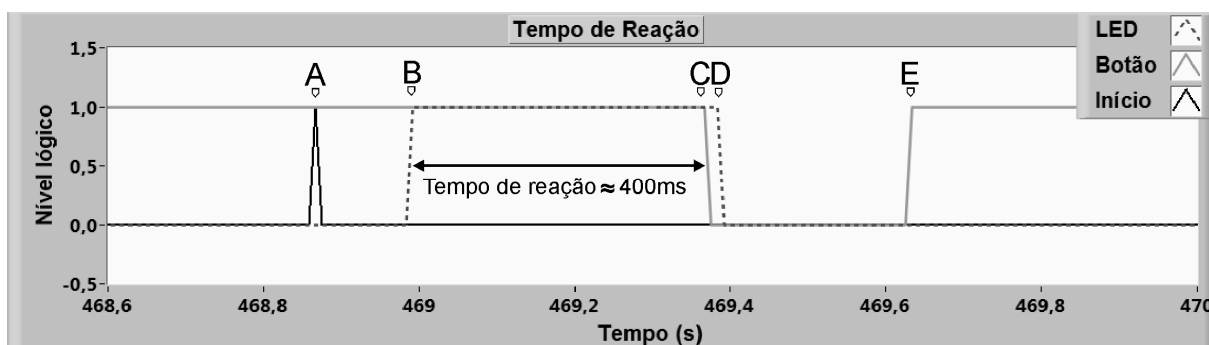


Figura 59 - Sinais relativos a um trecho de captura.

A amplitude dos sinais é definida em nível lógico por se tratar de estado ligado ou desligado. (A) Sinaliza o início de um *trial*; (B) Indica o início de uma estimulação (LEDs na vertical ligados); (C) Momento em que o sujeito pressiona o botão; (D) Retirada da estimulação pelo sistema (LEDs na horizontal ligados); (E) Sujeito libera o botão.

O sinal Botão permanece em nível lógico baixo enquanto o botão estiver pressionado. O tempo entre a subida do sinal LED (Figura 59B) e a descida do sinal Botão (Figura 59C) determina a primeira métrica do PVT, o tempo de reação (TR) que, neste caso, foi de aproximadamente 400 ms.

A métrica lapso é obtida com base no PVT descrito em Basner e Dingus (2011). Para cada *trial* são consideradas respostas válidas somente aquelas com $TR > 100$ ms. As respostas com $TR < 100$ ms (falsa detecção - FD) ou respostas sem estímulo (falsa resposta - FR) são classificadas como falsos inícios (FI). Já o lapso é a resposta com $TR > 500$ ms.

Entretanto, segundo a literatura (Basner *and* Dinges, 2011), a métrica lapso é mais abrangente do que sua própria definição, pois ela também considera os eventos de FI em sua totalização. Para cada estimulação sem resposta (sem botão pressionado) que exceda o tempo configurado no parâmetro Max_Reação, o sistema retira a estimulação (retorna a configuração de iluminação da Figura 58A) e gera um alarme sonoro para despertar o sujeito.

Com as métricas fornecidas pelo sistema é possível obter todos os indicadores associados ao PVT, conforme especificado em Basner e Dinges (2011), onde os autores buscam estabelecer uma padronização no PVT, com objetivo de maximizar a sensibilidade do teste na avaliação da privação do sono. Além destes indicadores é possível distinguir entre lapsos de olho aberto e fechado que, segundo Anderson *et al.* (2010), permite identificar o grau de engajamento do sujeito na tarefa executada.

5.2.4.2. Metodologia e métricas da pupilometria

A partir das métricas pupilométricas, descrita no item 3.5.2., o diâmetro da pupila em cada quadro do filme é obtido, sendo possível traçar o sinal temporal base da dinâmica da pupila que passa por uma etapa de identificação de falhas de captura (Figura 60A), resultando no sinal corrigido (linha pontilhada).

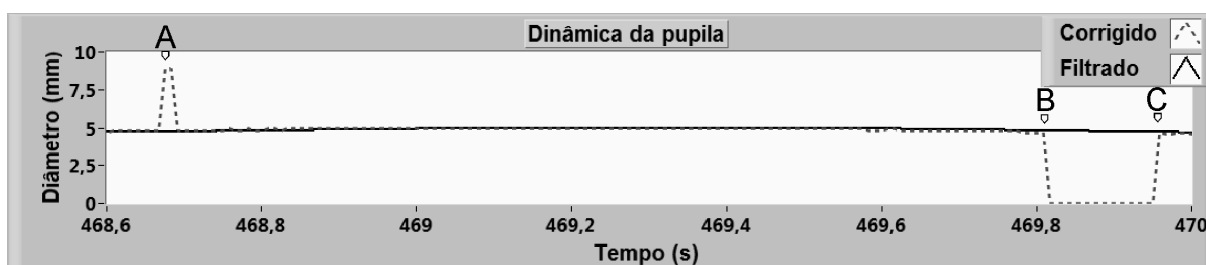


Figura 60 – Dinâmica da pupila.
(A) Sinaliza uma falha de captura, (B) Início e (C) fim de um evento de piscamento.

Estas falhas são identificadas, por meio do *timestamp* presente na imagem, sendo inserida uma amostra para cada quadro perdido (Figura 60A). A amplitude desta amostra é duas vezes a média das amostras do sinal base cuja estimacão é diferente de zero. O objetivo da atribuição deste valor para a amostra perdida é criar uma saturação positiva no sinal, diferenciando-as dos eventos de piscamento cuja amplitude da amostra recebe valor igual a zero (Figura 60BC). No sinal corrigido é aplicada a remoção de artefatos onde os pontos pertencentes aos eventos de falhas de captura (Figura 60A) e aos piscamentos (Figura 60BC) são substituídos por uma interpolação linear. Em seguida, é aplicado um filtro Butterworth

passa baixa de segunda ordem, com frequência de corte de 2 Hz, para obtenção do sinal filtrado (linha contínua) (Figura 60).

Com a métrica pupilométrica de diâmetro da pupila fornecida pelo sistema é possível construir a curva da dinâmica da pupila de onde são obtidos diversos indicadores para estudo de privação de sono, que são classificados em duas categorias: *hippus* (oscilação da pupila) e *miosis* (constricção da pupila). Entre os que se baseiam no *hippus* encontram-se: o *power spectrum* (PS) (Ludtke *et al.*, 1998), o *sum of squares* (SS) (McLaren *et al.*, 1992) e o *pupil unrest index* (PUI) (Wilhelm *et al.*, 1998). Já na miose têm-se: *mean pupil diameter* (MPD) (Wilhelm *et al.*, 1998), *pupil diameter ratio* (PDR) (Morad *et al.*, 2000), *pupillary variability ratio* (PVR) (Morad *et al.*, 2000), *pupillary fatigue ratio* (PFR) (Morad *et al.*, 2000), *resting pupil diameter* (RPD) com abordagem no domínio do tempo (Bitsios *et al.*, 2006) e na frequência (Nakayama *et al.*, 2008). Atualmente, este sistema já disponibiliza os indicadores PS e o MPD que são referências nas suas respectivas categorias.

A métrica relativa ao piscamento é obtida com base nas medidas de diâmetro da pupila. Para o caso de uma obstrução em que o algoritmo de detecção não seja capaz de identificar a pupila, o algoritmo de estimação associa o valor zero para o diâmetro da pupila. Dessa forma, os quadros consecutivos cujos respectivos diâmetros apresentem valor zero, são considerados como evento de piscamento. Embora o sistema forneça tanto a medida de diâmetro como a de abertura da pálpebra associada (Figura 34A coluna Inferior/Diagonal Esquerda), com as quais é possível a obtenção dos demais indicadores da dinâmica palpebral tais como: tempo de fechamento, duração e reabertura de pálpebra, ainda não foi implementada uma métrica criteriosa e automatizada para suas respectivas estimativas.

Embora o piscamento seja considerado um artefato na obtenção de indicadores associados à oscilação da pupila, diversos estudos apontam a dinâmica palpebral como um potencial indicador de sonolência (Caffier *et al.*, 2003; Malbouisson *et al.*, 2010). No estágio atual de implementação do *software*, o sistema fornece o indicador de eventos de piscamento.

5.2.4.3. Metodologia e métricas integradas do PVT com a pupilometria

A Figura 61 (gráfico Tempo de Reação) ilustra um caso típico de lapso (Tempo de Reação maior do que 500ms) ocorrido durante o ensaio de um voluntário. Juntamente com a curva do diâmetro da pupila (Figura 61 - gráfico Dinâmica da pupila) é possível identificar que o evento é de lapso com olho aberto (LOA).

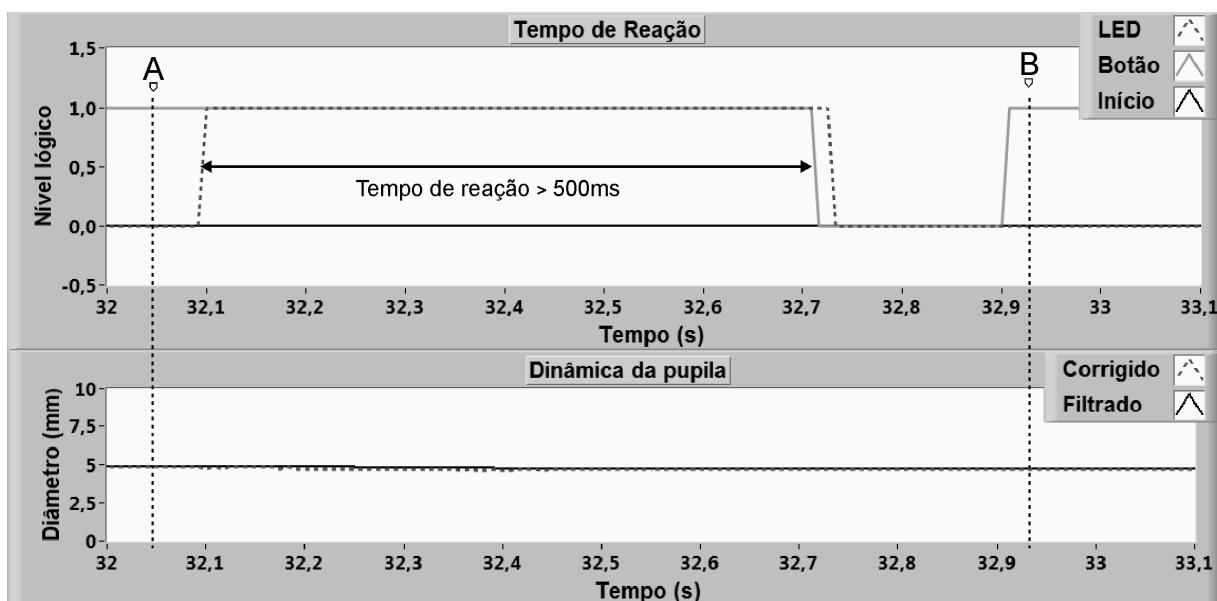


Figura 61 – Exemplo típico de um lapso (LOA).

Caracterizado por um $TR > 500$ ms (gráfico Tempo de Reação). O gráfico Dinâmica da pupila (gráfico inferior) mostra que durante o intervalo delimitado pelas linhas verticais A e B o olho permaneceu aberto, o que torna possível a discriminação entre lapsos com olho aberto e fechado.

Para obtenção das métricas foi configurado um padrão de ensaio cuja duração de coleta de dados é de 10 minutos, com 2 s para leitura do tempo de reação e com 5 s para o tempo máximo de reação. A configuração adotada para o ensaio é baseada no proposto por Basner e Dinges, (2011).

5.2.5. Indicadores de privação de sono

Dos 19 sujeitos envolvidos no experimento, dados de três participantes foram descartados devido a problemas tais como: câmera desalinhada em relação ao olho e longos períodos de olho fechado durante o processo de coleta, que resultaram em imagens de baixa qualidade e impróprias para o processamento. Para o grupo restante de 16 sujeitos, dos dez ensaios realizados com cada um, foram processadas e avaliadas três situações distintas. Inicialmente, após uma noite de sono (SPS – sem privação de sono), que corresponde ao 1º ensaio e posteriormente, com privação de 24 e 36 horas de sono (CPS – com privação de sono), que corresponde ao 7º e 10º ensaios.

Para avaliação da privação do sono foi considerada a composição de três indicadores: lapsos, potência de oscilação da pupila e eventos de piscamento (LPeP).

Dentre as métricas do PVT, o lapso foi utilizado como indicador de privação do sono, por ser considerado como o mais robusto na identificação da privação do sono (Basner and Dinges, 2011).

Já na pupilometria, McLaren *et al.* (1992) e Ludtke *et al.* (1998) mostraram que, estando o sujeito em estado de alerta, o diâmetro pupila apresenta-se estável (Figura 62), entretanto quando privado do sono, ocorrem flutuações no seu diâmetro (Figura 64) da ordem de alguns milímetros com frequências $< 0,5$ Hz. Em 2009, Wilhelm *et al.* mostraram que a pupila é regulada exclusivamente pelo sistema nervoso autônomo e tem relação direta com a promoção do estado de alerta pelo núcleo cerúleo no tronco cerebral. Dessa forma, as oscilações de baixa frequência presentes no diâmetro da pupila são um indicador diferenciado de estado de alerta devido à sua natureza objetiva e fisiológica. Nessa perspectiva, o indicador de privação de sono adotado no presente estudo foi a potência das oscilações da pupila, sendo consideradas apenas as componentes de frequência $< 0,8$ Hz, conforme proposto em trabalhos que se baseiam na oscilação do diâmetro da pupila (Ludtke *et al.*, 1998; McLaren *et al.*, 2002). Segundo Ludtke *et al.* (1998), também pode ser aplicado o PUI como indicador de sonolência visto que há forte correlação com o espectro de potência da curva de diâmetro da pupila. O indicador de sonolência fundamentado na potência é calculado com base na energia presente nas componentes de baixa frequência do sinal de diâmetro da pupila. Considerando uma possível detecção de sonolência antes do tempo total de ensaio, a análise de potência é realizada de forma segmentada. Assim como em Ludtke *et al.* (1998), o sinal (Figura 62) foi dividido em 8 segmentos, contendo em cada um 8192 amostras (2^{13}), resultando em um tempo de 68,27 s. O número de amostras e o respectivo intervalo de tempo selecionado do sinal são oriundos da taxa de amostragem utilizada neste experimento, de 120 Hz e, conseqüentemente, diferentes dos dados de Ludtke *et al.* (1998), que utilizaram menor taxa de amostragem (25 Hz). Para cada segmento, foi aplicada a Transformada Discreta de Fourier (DFT) e, em seguida, calculado o somatório da potência das componentes de frequência presentes na banda de 0,014 a 0,8 Hz (Figura 63). A Figura 62 e a Figura 63 exemplificam as curvas típicas da dinâmica da pupila e do respectivo PS (*Power Spectrum*) para os oito segmentos, obtidos de um sujeito, porém na condição “sem privação do sono”.

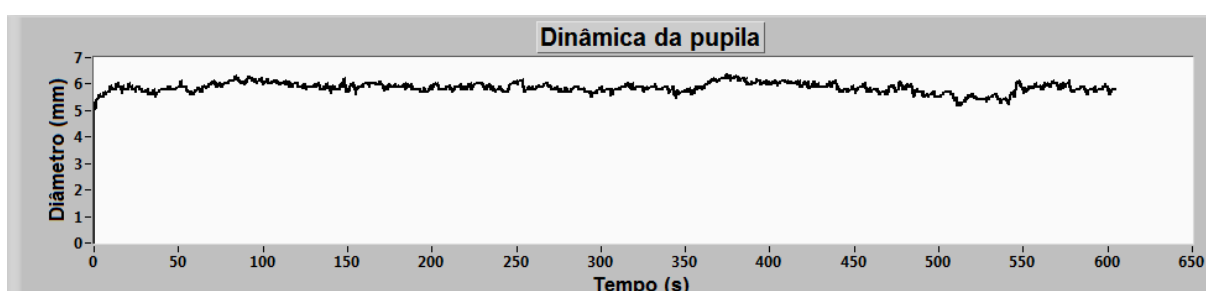


Figura 62 - Curva do diâmetro da pupila após processo de filtragem de falhas de captura e de piscamento de sujeito na condição “sem privação do sono”.

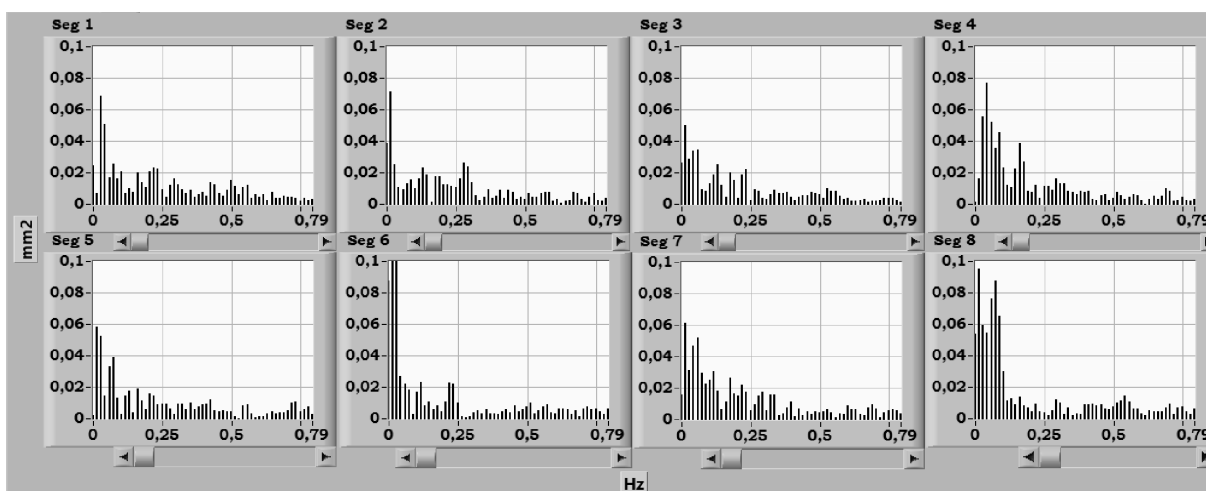


Figura 63 – *Power Spectrum* típico de sujeito na condição “sem privação do sono”.

Já a Figura 64 e a Figura 65 exemplificam as curvas típicas da dinâmica da pupila e do respectivo PS para os oito segmentos, obtidos do mesmo sujeito, porém na condição “com privação do sono”.

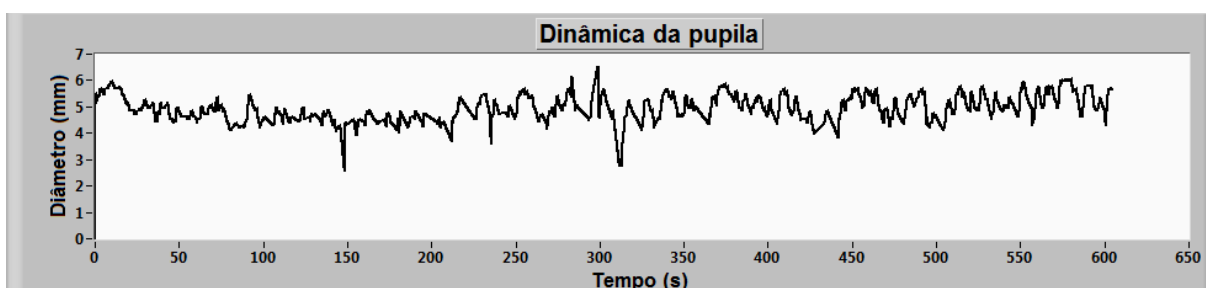


Figura 64 - Curva do diâmetro da pupila após processo de filtragem de falhas de captura e de piscamento de sujeito na condição “com privação do sono”.

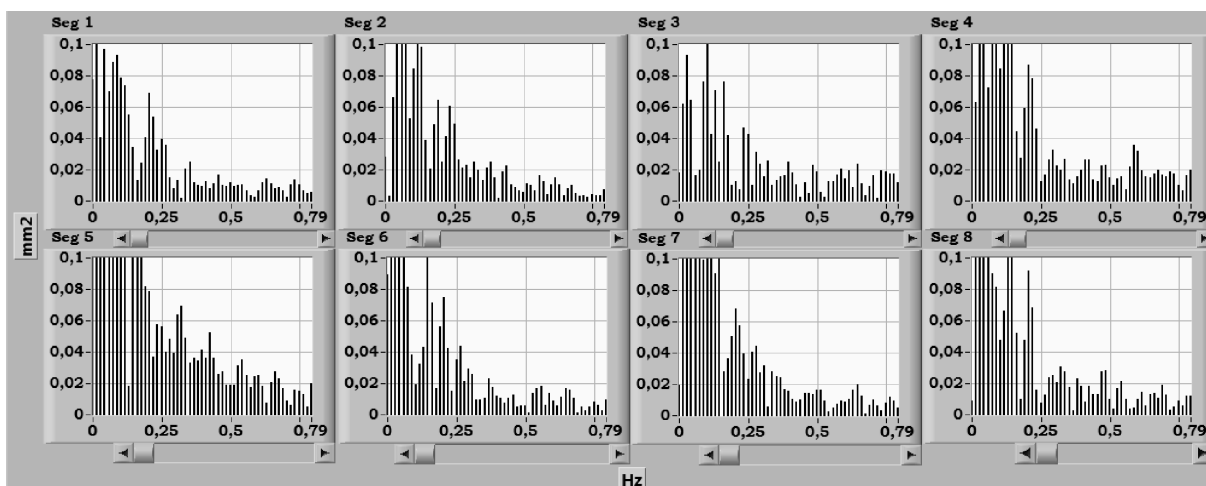


Figura 65 – *Power Spectrum* típico de sujeito na condição “com privação do sono”.

Para o indicador de eventos de piscamento, cujo tempo médio é da ordem de 250 ms (Caffier *et al.*, 2003; Stern *et al.*, 1994), foram considerados válidos apenas aqueles cujo tempo de duração foi maior do que 50 ms (Caffier *et al.*, 2003). Para calcular o tempo de piscamento, foram considerados os eventos de início e fim para uma abertura de pálpebra de cerca de 50 % do valor estimado para o diâmetro da pupila (Figura 34A coluna Inferior/Diagonal Esquerda).

Uma segunda abordagem foi realizada considerando alterações nos parâmetros para os indicadores de lapsos e piscamento. Essas alterações foram avaliadas, pois padrões de estimulação distintos aplicados nos PVT geram tempos de reações distintos (Ratcliff and Van Dongen, 2011; Reimers and Stewart, 2008), que interferem diretamente nos eventos de lapso. Em relação ao piscamento, o indicador que se baseia em sua frequência é questionado na literatura (Caffier *et al.*, 2003; Ingre *et al.*, 2006), desta forma foram considerados apenas os eventos de piscamento de longa duração.

Buscando verificar a possibilidade de redução do tempo de ensaio, foi realizada uma avaliação da evolução dos indicadores ao longo do tempo. Nesse contexto, a mesma segmentação temporal considerada para o indicador de potência foi aplicada nos indicadores de lapsos e de eventos de piscamento de longa duração. Para cada segmento foram estabelecidos limiares para os indicadores com base na curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*) e em seguida computados os seus respectivos V_{Ps} (verdadeiros positivos).

Outro aspecto avaliado neste experimento foi o ritmo circadiano. Devido ao estabelecimento de limiares com base no 1º e 10º ensaios, eles podem conter uma componente de resposta relativa ao ritmo circadiano. Isto porque a realização destes ensaios abrangeu momentos distintos do dia: o 1º ensaio às 8 h e, o 10º, às 20 h. Para minimizar este possível efeito, novos limiares foram estabelecidos baseados no 1º e 7º ensaios. Neste caso, ambos foram realizados às 8 h e com uma defasagem de 24 h garantindo, conseqüentemente, um período de privação de sono.

5.3. Resultados

O número de lapsos do 10º ensaio (com privação de sono por um período de 36 horas), cuja média foi de $34,6 \pm 19,1$, em 14 dos voluntários mostrou-se superior ao do 1º ensaio (estado de alerta), cuja média foi $10,8 \pm 10,9$. Nos sujeitos 1 e 13, esta relação foi menor que 1 (Tabela 4). Resultados similares foram obtidos para os indicadores de potência de oscilação da pupila, onde as respectivas médias foram de $2,643 \pm 1,751$ e $0,859 \pm 0,540$

mm² e, para os eventos de piscamento, com as respectivas médias de 113,3 ± 68,5 e 70,4 ± 54,3. Sendo que a relação menor que 1 foi observada em outros voluntários. Nos indicadores avaliados foi encontrada uma diferença significativa ($p < 0,001$ teste pareado não paramétrico de Wilcoxon) entre CPS (com privação do sono - 10º ensaio) e SPS (sem privação do sono - 1º ensaio). As curvas ROC (*Receiver Operating Characteristic*) de cada indicador (Figura 66) foram obtidas considerando a hipótese nula H_0 : sujeito em estado de alerta (1º ensaio) e a hipótese alternativa H_1 : sujeito privado de sono (10º ensaio). Os valores dos lapsos nos sujeitos variaram de 1 a 65 (Tabela 4), assim os limiares utilizados para este indicador foram de 0 a 66. Para o limiar de 35 lapsos o F_P (falso positivo, H_1/H_0) correspondente foi de 0 %. Por outro lado, no 10º ensaio, 7 sujeitos ultrapassaram o respectivo limiar (Tabela 4), gerando uma taxa de detecção (V_P – verdadeiro positivo, H_1/H_1) de 43,8 % (Tabela 5).

Para o indicador de potência de oscilação da pupila a faixa de limiares utilizada foi de 0,086 a 6,30 mm². Para o limiar de 1,807 mm², que considera um F_P de 0 %, foi obtido um V_P de 56,3 % (Tabela 5). Para o indicador de eventos de piscamento a faixa de limiares utilizada foi de 15 a 264. Para o limiar de 218, foi obtido um V_P de 12,5 % (Tabela 5).

Tabela 4 – Indicadores de lapsos, potência de oscilação de pupila e eventos de piscamento. Lapsos (TR > 500 ms), potência de oscilação da pupila e eventos de piscamentos > 50 ms durante o 1º ensaio (estado de alerta) e 10º ensaio (privado de sono). Em negrito as relações entre o 10º e 1º ensaio menor do que 1. Em fundo cinza destacam-se as ocorrências de V_P s para os respectivos indicadores.

Sujeito	Lapsos (TR > 500 ms)			Potência (mm ²)			Eventos piscamento > 50 ms		
	1º ensaio	10º ensaio	10º/1º	1º ensaio	10º ensaio	10º/1º	1º ensaio	10º ensaio	10º/1º
1	9	7	0,78	0,566	1,880	3,32	39	50	1,28
2	4	47	11,75	0,092	0,798	8,67	80	263	3,29
3	1	20	20,00	0,613	4,778	7,79	52	102	1,96
4	12	63	5,25	1,037	4,271	4,12	16	88	5,50
5	4	10	2,50	0,180	0,616	3,42	58	109	1,88
6	34	64	1,88	0,162	2,102	12,98	96	184	1,92
7	4	20	5,00	1,108	1,177	1,06	37	70	1,89
8	2	38	19,00	1,448	6,293	4,35	74	107	1,45
9	4	37	9,25	1,523	4,140	2,72	57	121	2,12
10	2	31	15,50	0,540	4,214	7,80	31	64	2,06
11	14	18	1,29	0,836	4,403	5,27	74	61	0,82
12	26	65	2,50	1,801	1,535	0,85	175	218	1,25
13	31	25	0,81	0,514	1,236	2,40	26	32	1,23
14	18	54	3,00	0,992	2,255	2,27	217	195	0,90
15	5	32	6,40	0,668	1,555	2,33	28	39	1,39
16	3	22	7,33	1,661	1,046	0,63	66	78	1,18
Média	10,8	34,6		0,859	2,644		70,4	111,3	
DP	10,9	19,1		0,540	1,751		54,3	68,5	

Devido aos baixos V_P s individuais obtidos para os indicadores (Tabela 5), foi avaliada a abordagem da composição dos indicadores lapsos, potência da oscilação da pupila e eventos de piscamento (LPeP), proposta no item 5.2.5. Nessa abordagem, considerou-se o resultado

como um V_P quando ocorresse um V_P em qualquer um dos três indicadores. Com objetivo de auxiliar na identificação visual de um V_P composto, os índices que ficaram acima dos limiares estabelecidos (Tabela 5) foram destacados na Tabela 4 em tom de cinza. Desse modo, é possível identificar na Tabela 4 a ocorrência de V_P composto para os sujeitos: 1,2, 3, 4, 6, 8, 9, 10, 11, 12 e 14 (resumo na Tabela 5).

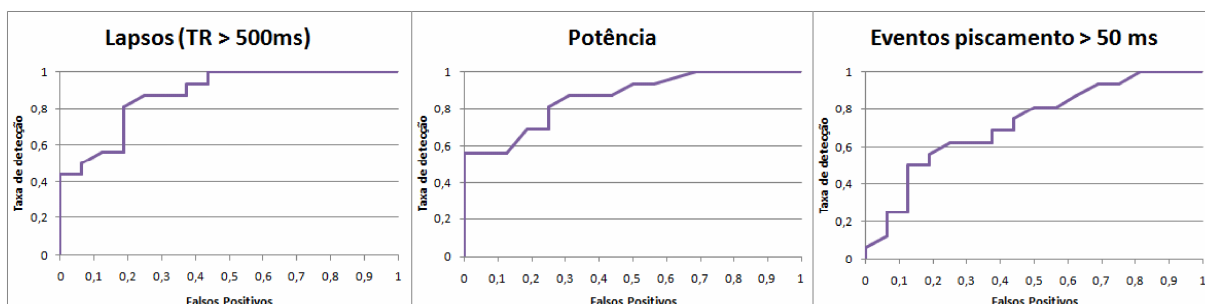


Figura 66 - Curvas ROC dos indicadores relativos ao 1º e 10º ensaios.

Embora a abordagem composta tenha permitido obter uma taxa de acerto (68,8 %) superior à abordagem individual, ainda assim apresenta uma baixa taxa de acerto.

Tabela 5 - V_p s individuais dos indicadores e sua composição, obtidos no 1º e 10º ensaios para abordagem LPeP.

		Limiar	V_p % (Nº sujeitos)
Lapsos (TR > 500 ms)		35	43,8 (7)
Potência (mm^2)		1,807	56,3 (9)
Piscamento (T > 50 ms)		218	12,5 (2)
Composição	V_p % (Nº sujeitos)	68,8 (11)	
	F_p % (Nº sujeitos)	0 (0)	

Devido aos valores inadequados de V_P para o estabelecimento de limiares, foi realizada uma segunda abordagem, denominada LPePld (lapsos, potência de oscilação da pupila e eventos piscamento de longa duração), na qual foram definidos novos parâmetros para os indicadores de lapsos e piscamento considerando os valores obtidos para as métricas de tempo de reação e eventos de piscamento. O tempo de reação médio para indivíduos sem privação de sono obtido pelo protótipo portátil foi de $374,6 \pm 47,1$ ms o que excede em 49,6 % (124,6 ms) a média de 250 ms informado na literatura (Basner *and* Dinges, 2011). Dessa forma, um lapso passou a ser computado apenas para $TR > 600$ ms). Já em relação ao indicador de piscamento, foram considerados apenas os piscamentos de longa duração ($T > 400$ ms) conforme sugerem Tirunahari *et al.*, (2003).

Na LPePld o número de lapsos do 10º ensaio, cuja média foi $29,6 \pm 16,7$, mostrou-se superior ao do 1º ensaio, com média de $5,9 \pm 6,0$ em 100% dos casos, enquanto que no indicador de eventos de piscamento de longa duração foi maior em 93,8% dos casos (Tabela 6). Note-se que os resultados da potência se mantiveram inalterados. Vale ressaltar que nos eventos de piscamento, com médias de $36,0 \pm 32,3$ e $3,3 \pm 4,5$ para o 10º e 1º ensaios respectivamente, a relação 10º/1º foi menor do que 1 no sujeito 1, não coincidindo, portanto, com os sujeitos 12 e 16, que apresentaram a relação 10º/1º menor do que 1 para o indicador de potência (destacados em **negrito** Tabela 6). Novamente, foi encontrada uma diferença significativa ($p < 0,001$) entre CPS e SPS nos indicadores avaliados.

Tabela 6 – Indicadores de lapsos, potência de oscilação de pupila e eventos de piscamento para abordagem LPePld. Lapsos (TR > 600ms), potência de oscilação da pupila e piscamentos > 400ms durante o 1º e 10º ensaios para abordagem LPePld. Em **negrito** as relações entre o 10º e 1º ensaio menor que 1. Em fundo cinza destacam-se as ocorrências de V_p para os respectivos indicadores.

Sujeito	Lapsos (TR > 600 ms)			Potência (mm ²)			Eventos piscamento > 400 ms		
	1º ensaio	10º ensaio	10º/1º	1º ensaio	10º ensaio	10º/1º	1º ensaio	10º ensaio	10º/1º
1	4	6	1,50	0,566	1,880	3,32	0	0	0,00
2	3	35	11,67	0,092	0,798	8,67	1	110	110,00
3	1	19	19,00	0,613	4,778	7,79	2	27	13,50
4	5	57	11,40	1,037	4,271	4,12	3	45	15,00
5	2	9	4,50	0,180	0,616	3,42	1	7	7,00
6	18	55	3,06	0,162	2,102	12,98	0	64	64,00
7	1	11	11,00	1,108	1,177	1,06	1	8	8,00
8	2	34	17,00	1,448	6,293	4,35	16	37	2,31
9	1	31	31,00	1,523	4,140	2,72	10	83	8,30
10	2	31	15,50	0,540	4,214	7,80	1	47	47,00
11	12	18	1,50	0,836	4,403	5,27	0	7	7,00
12	17	57	3,35	1,801	1,535	0,85	2	22	11,00
13	4	16	4,00	0,514	1,236	2,40	0	1	1,00
14	15	43	2,87	0,994	2,255	2,27	8	71	8,88
15	4	30	7,50	0,668	1,555	2,33	2	13	6,50
16	3	22	7,33	1,661	1,046	0,63	6	34	5,67
Média	5,9	29,6		0,859	2,644		3,3	36,0	
DP	6,0	16,7		0,540	1,751		4,5	32,3	

Assumindo as mesmas hipóteses H_0 e H_1 descritas na abordagem LPeP e baseado nas curvas ROC (Figura 67), obteve-se para $F_p=0\%$ as taxas de detecção $V_p=68,8$ e $62,5\%$ para o indicador de lapsos e eventos de piscamento de longa duração, respectivamente (Tabela 7). Para a composição dos indicadores, o V_p foi de $87,5\%$ e F_p de 0% .

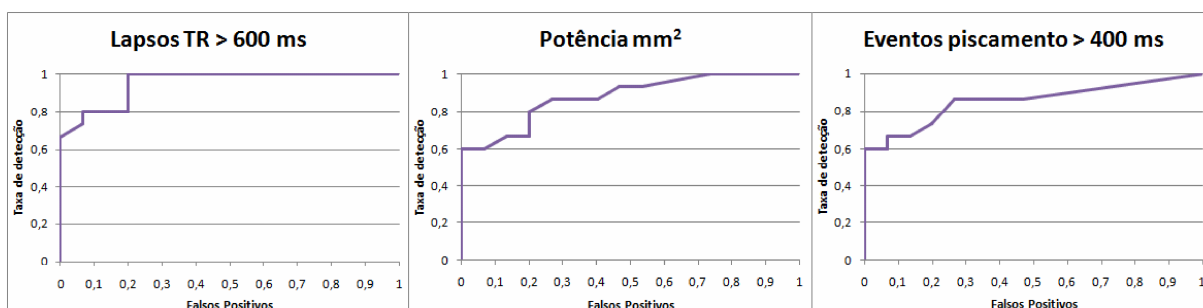


Figura 67 - Curvas ROC dos indicadores relativos ao 1º e 10º ensaios para abordagem LPePId.

Tabela 7 - V_p s individuais dos indicadores e sua composição, obtidos no 1º e 10º ensaios para abordagem LPePId.

		Limiar	V_p % (Nº sujeitos)
Lapsos (TR > 600 ms)		19	68,8 (11)
Potência (mm ²)		1,831	56,3 (9)
Piscamento (T > 400 ms)		17	62,5 (10)
Composição			
	V_p % (Nº sujeitos)		81,3 (13)
	F_p % (Nº sujeitos)		0 (0)

A determinação do tempo mínimo necessário para identificar a privação do sono foi realizada obtendo-se os indicadores em segmentos de $t=68,27$ s. O primeiro ponto da curva no eixo Segmentos é 2 (Figura 68 e Figura 69), pois não foi possível definir limiares para os indicadores no primeiro segmento ($t=68,27$ s), devido à proximidade dos valores absolutos obtidos para os indicadores no 1º e 10º ensaios, não mostrando diferença significativa ($p>0,05$). Na Figura 68, observa-se que se inicia uma estabilização de V_p a partir do 5º segmento (aproximadamente 6 minutos) para todos os indicadores, entretanto com uma faixa de variação de 40 a 80 %.

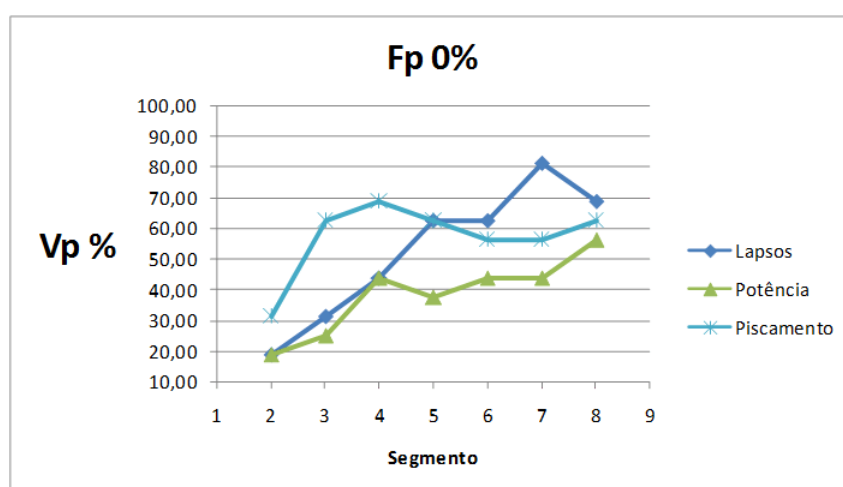


Figura 68 – Curvas de segmentação individuais.

Comportamento de V_p s e F_p s individuais ao longo do 1º e 10º ensaios considerando a abordagem LPePId.

A composição de indicadores (Figura 69) apresenta uma resposta bem mais estável, inclusive na região abaixo do 5º segmento, que é notadamente instável quando avaliada por meio de indicadores individuais. No 5º segmento, a taxa de detecção de V_P é de 75% com F_P de 0%.

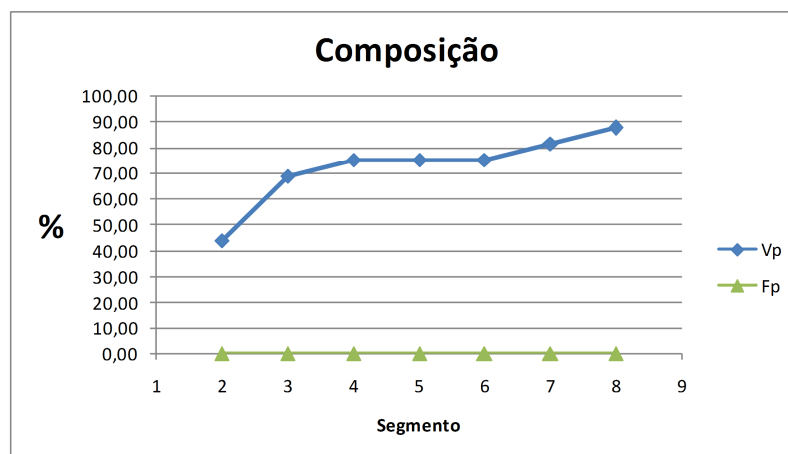


Figura 69 – Segmentação composta.
Comportamento de V_{Ps} e F_{Ps} compostos ao longo do 1º e 10º ensaios considerando a abordagem LPePld.

Na avaliação do ritmo circadiano para a abordagem LPePld, a relação 7º/1º (Tabela 8) apresentou um comportamento semelhante em relação ao 10º/1º (Tabela 6), com 93,3 % dos casos, em todos os indicadores, apresentando uma relação maior que 1. A curva ROC para o indicador de lapsos também mostrou esta semelhança (Figura 70). Por outro lado, observou-se uma melhora na taxa de detecção para os indicadores de potência de oscilação da pupila e eventos de piscamento de longa duração (Tabela 9 e Figura 70), que resultou num aumento significativo de V_P (93,8 %) na composição dos indicadores (Tabela 9), sendo que apenas o sujeito 16 não foi identificado como privado do sono no 7º ensaio.

Tabela 8 – Indicadores de lapsos, potência de oscilação de pupila e eventos de piscamento no 1º e 7º ensaios para abordagem LPePId.

Lapsos (TR > 600ms), potência de oscilação da pupila e piscamentos > 400ms durante o 1º (alerta) e 7º (privado de sono) ensaios para abordagem LPePId. Em negrito as relações entre o 7º e 1º ensaio menor que 1. Em fundo cinza destacam-se as ocorrências de V_p s para os respectivos indicadores.

Sujeito	Lapsos (TR > 600 ms)			Potência (mm ²)			Eventos piscamento > 400 ms		
	1º ensaio	7º ensaio	7º/1º	1º ensaio	7º ensaio	7º/1º	1º ensaio	7º ensaio	7º/1º
1	4	6	1,50	0,566	3,175	5,61	0	0	0,0
2	3	40	13,33	0,092	0,477	5,18	1	117	117,0
3	2	15	7,50	0,765	4,425	5,78	0	14	14,0
4	5	55	11,00	1,037	5,530	5,33	3	47	15,7
5	2	15	7,50	0,180	2,798	15,54	1	23	23,0
6	18	55	3,06	0,162	2,576	15,90	0	58	58,0
7	1	40	40,00	1,108	5,099	4,60	1	42	42,0
8	2	25	12,50	1,448	4,905	3,39	16	41	2,6
9	1	31	31,00	1,523	3,401	2,23	10	112	11,2
10	2	42	21,00	0,540	2,212	4,10	1	70	70,0
11	12	9	0,75	0,836	3,020	3,61	0	6	6,0
12	17	47	2,76	1,801	2,175	1,21	2	68	34,0
13	4	49	12,25	0,514	4,269	8,31	0	28	28,0
14	15	32	2,13	0,994	1,186	1,19	8	41	5,1
15	4	54	13,50	0,668	3,369	5,04	2	51	25,5
16	3	6	2,00	1,661	0,950	0,57	6	10	1,7
Média	5,9	32,6		0,868	3,098		3,2	45,5	
DP	5,9	17,9		0,536	1,497		4,6	34,2	

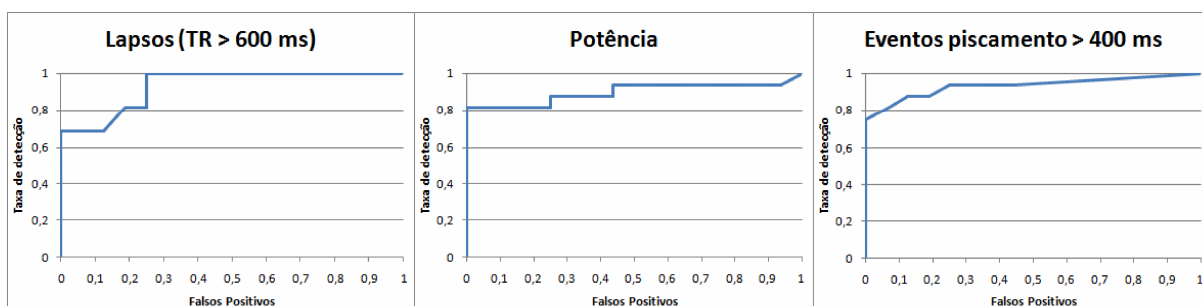


Figura 70 - Curvas ROC dos indicadores relativos ao 1º e 7º ensaios para abordagem LPePId.

Tabela 9 - V_p s individuais dos indicadores e sua composição, obtidos no 1º e 7º ensaios para abordagem LPePId.

		Limiar	V_p % (Nº sujeitos)
Lapsos (TR > 600 ms)		19	68,8 (11)
Potência (mm ²)		1,848	75 (12)
Piscamento (T > 400 ms)		17	75 (12)
Composição	V_p % (Nº sujeitos)	93,8 (15)	
	F_p % (Nº sujeitos)	0 (0)	

Já na determinação do tempo mínimo necessário para identificar a privação do sono, para um F_p de 0 % (Figura 71), inicia-se uma estabilização de V_p a partir do 5º segmento

(aproximadamente 6 minutos) para todos os indicadores, entretanto com uma faixa de variação de 56 a 90 %.

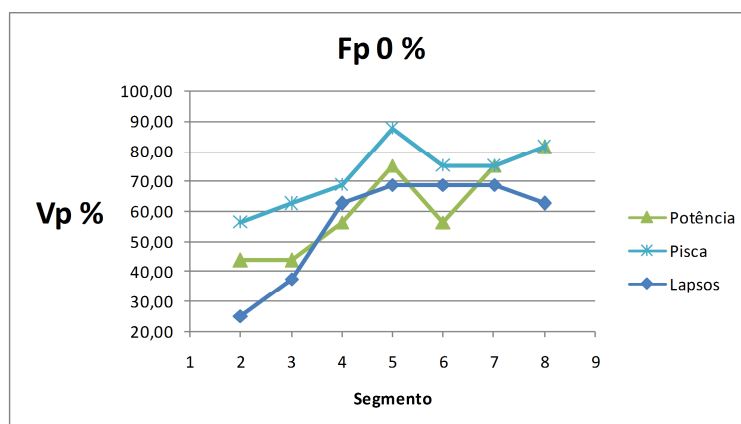


Figura 71 - Curvas de segmentação individuais ao longo do 1º e 7º ensaios. Comportamento de V_p e F_p individuais ao longo do 1º e 7º ensaios considerando a abordagem LPePId.

A composição de indicadores (Figura 72) apresentou uma resposta bem mais estável, inclusive na região abaixo do 5º segmento que é notadamente instável quando avaliada por meio de indicadores individuais. A partir do 6º segmento a taxa de detecção V_p é de 93,33 %.

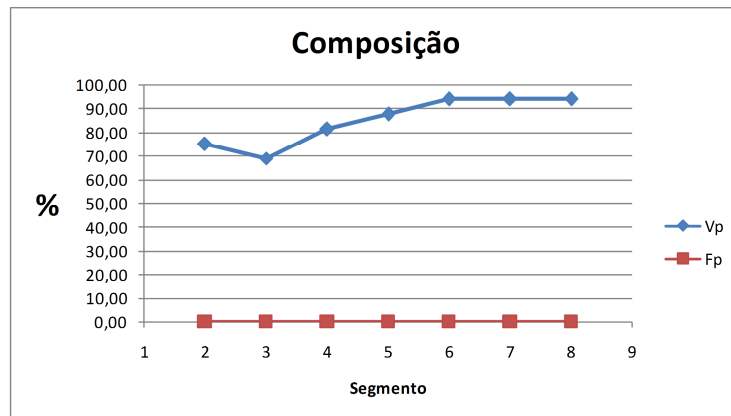


Figura 72 - Segmentação composta ao longo do 1º e 7º ensaios. Comportamento de V_p e F_p compostos ao longo do 1º e 7º ensaios considerando a abordagem LPePId.

5.4. Discussão

Diversos trabalhos relacionados com avaliação da sonolência adotam indicadores de natureza objetiva (comportamental ou fisiológica) de forma isolada (Basner *and* Dinges, 2011; Benedetto *et al.*, 2011; Caffier *et al.*, 2003, 2005; Curcio *et al.*, 2001; Lim *and* Dinges, 2008; Lisper *and* Kjellberg, 1972; Merritt *et al.*, 2004; Stern *et al.*, 1994; Torsvall *et al.*, 1989; Wilhelm *et al.*, 2009). Em alguns trabalhos, são aplicados testes subjetivos na identificação do

estado do sono do sujeito, que serve de referência para medida objetiva (Ingre *et al.*, 2006; Morris and Miller, 1996; Nakayama *et al.*, 2008). Se, por um lado, esta prática torna os resultados mais vulneráveis por ser dependente do estado psicofisiológico do sujeito, por outro lado, a utilização exclusiva de indicadores de natureza objetiva e abordagem fisiológica, como o MSLT ou EEG, apresentam uma limitação prática de aplicação.

A metodologia apresentada no presente estudo propõe uma abordagem integrada de indicadores de natureza objetiva e abordagem fisiológica e comportamental, que produz uma redundância nos resultados, assim como aumento na taxa de detecção de privação de sono.

Na abordagem LPeP (Lapsos, potência de oscilação da pupila e piscamento), em 100% dos sujeitos encontrou-se uma relação maior ou igual a 1 em no mínimo dois dos três indicadores avaliados, o que caracterizaria a privação do sono (Tabela 1). Entretanto, devido à grande variabilidade dos valores dos indicadores obtidos nos ensaios, não foi possível determinar limiares adequados ($V_p=68,8\%$ e $F_p=0\%$) entre privação do sono e estado de alerta.

Na busca do estabelecimento de limiares que melhor discriminem CPS (com privação do sono) e SPS (sem privação do sono), foi avaliada uma nova abordagem, denominada LPePId, na qual foram redefinidos os parâmetros para os indicadores de lapsos e piscamento, com o parâmetro de potência inalterado. No que se refere aos lapsos, embora a literatura estabeleça eventos com $TR > 500$ ms, nesta nova abordagem este tempo foi redefinido para $TR > 600$ ms, com base em observações experimentais. Em relação à frequência de piscamento, cuja robustez é questionada na literatura (Caffier *et al.*, 2003), esta foi substituída por uma adaptação do indicador tempo de duração do piscamento descrito em Ingre *et al.*, (2006). Nesta adaptação, são computados apenas os piscamentos de longa duração (400 – 500 ms) e os *microsleeps*, ou seja, todo fechamento de pálpebra que exceda a 500 ms. O *microsleep* também já foi estudado por Tirunahari *et al.* (2003) e observou-se que sua aplicação durante o MSLT torna o resultado mais confiável do que o obtido isoladamente com MSLT na avaliação da EDS (Sonolência Diurna Excessiva). Os resultados obtidos nesta abordagem, além de possibilitarem a discriminação entre CPS (10º ensaio) e SPS (1º ensaio) considerando os três indicadores (Tabela 6), também permite o estabelecimento de limiares individuais para F_p de 0% (lapsos=19, potência de oscilação da pupila=1,831 mm² e piscamentos de longa duração = 17), cuja composição propiciou a identificação da privação do sono nos sujeitos avaliados com um V_p de 81,3% e F_p de 0%. Na Tabela 7, pode-se

observar que a composição de indicadores apresenta um resultado melhor do que a adoção de indicadores de forma isolada, elevando o V_P médio de 62,5 % para 81,3 %.

Com relação à avaliação dos indicadores individuais ao longo do tempo, embora haja uma estabilização a partir do 5º segmento (Figura 68), existe uma grande variabilidade (50%) nos V_{PS} dos indicadores individuais. Novamente, a composição de indicadores (Figura 69) proporcionou uma resposta muito mais estável, inclusive na região abaixo do 5º segmento, que é notadamente instável quando avaliada por meio de indicadores individuais. Embora com um $V_P = 73,8$ %, observa-se uma estabilização a partir do 4º segmento e uma subida de V_P a partir do 6º segmento.

Na avaliação entre o 1º e 7º ensaios, houve uma melhoria na taxa de detecção para os indicadores de potência de oscilação da pupila e eventos de piscamento de longa duração, que elevou a composição dos indicadores a um V_P de 93,8 % (Tabela 9). Por outro lado, a melhoria na taxa de detecção mostrou-se presente ao longo de todo ensaio (Figura 72) onde se observa uma subida na taxa de detecção a partir do 4º segmento e uma estabilização em V_P de 93,8 % a partir do 6º segmento. Esse comportamento diferenciado do 1º e 7º ensaios em relação ao 1º e 10º pode ser um indicador de uma possível componente do ritmo circadiano, que poderá ser determinada de forma mais precisa com o processamento dos dados dos demais ensaios.

A estabilização ocorrida a partir do 5º segmento tanto para o 1º e 10º ensaios (Figura 68) quanto para o 1º e 7º ensaios (Figura 71) é função do maior tempo de ensaio. À medida que aumenta o tempo de exame, ficam mais acentuadas as manifestações de privação do sono por meio dos indicadores, melhorando a discriminação. Dessa forma, este comportamento a partir do 5º segmento abre uma perspectiva para ensaios com menor duração, de aproximadamente 5 minutos. Entretanto mais estudos devem ser realizados e com amostragem maior. Ensaios com duração de 5 minutos já foram sugerido em trabalhos anteriores (Bitsios *et al.*, 2006; Nikolaou *et al.*, 2008) que, diferentemente desta proposta, utiliza somente o indicador RPD (*resting pupil diameter*), que se baseia na miose da pupila ao longo do tempo para identificar o estado de alerta.

A nova ferramenta, além de viabilizar a utilização de metodologias distintas para avaliação da privação de sono, também permite a distinção de lapsos com o olho aberto e fechado (Figura 61 - gráfico da dinâmica da pupila), o que constitui um importante marcador para identificar o grau de engajamento do sujeito na tarefa realizada no teste psicofísico (Anderson *et al.*, 2010).

Um aspecto importante, observado nos experimentos do presente estudo, é a ocorrência de oscilação da pupila mesmo em presença de luz ambiente (luminância próxima de 20 cd/m^2), uma vez que diversos experimentos abordam somente ambientes escotópicos ou com óculos que filtram a luz ambiente (Bitsios *et al.*, 2006; McLaren *et al.*, 2002; Wilhelm *et al.*, 2009; Wilhelm *et al.*, 1998). Como já era esperado, não ocorreu modulação do diâmetro da pupila em função da estimulação utilizada no dispositivo, uma vez que a fonte é IR e encontra-se fora da faixa de luz visível. Sendo assim, para que o sujeito possa perceber a estimulação, é necessário que direcione o seu olhar para o monitor de vídeo do sistema, onde a imagem capturada pela câmera mostra o reflexo corneal provocado pela estimulação IR. Acredita-se que seja possível estabelecer diversos padrões de estímulos, gerados sinteticamente por programação e apresentados via monitor sem modular a pupila, desde que estes padrões de estimulação mantenham uma luminância média de 20 cd/m^2 . Por outro lado, nesta situação não é garantida a sincronização entre o estímulo e a captura da imagem.

O dispositivo não fornece a informação do diâmetro em tempo real, entretanto é possível identificar, por meio do filme gravado, se as estimações de pupila com diâmetro zero correspondem realmente a eventos de piscamento. Isso não é possível na grande maioria dos *eyetrackers* e em sistemas tais como o descrito em Bernhardt *et al.* (1996), que fornecem medidas em tempo real, mas não distinguem uma falha de captura e um evento de piscamento.

O sistema utilizado apresenta uma limitação em sua resolução temporal de 8,33 ms, devido à taxa de aquisição da câmera que é de 120 Hz. Considerando a resolução do equipamento e as principais medidas efetuadas neste experimento, que são de lapsos $> 600 \text{ ms}$ e de piscamento de longa duração ($> 400 \text{ ms}$), os respectivos erros máximos nas medidas temporais são de 1,38 % e 2,08%, respectivamente.

Dentre os objetivos de investigação propostos neste estudo piloto, foi possível identificar que o dispositivo se mostrou eficiente na obtenção simultânea dos três indicadores (lapsos, potência de oscilação da pupila e eventos piscamento de longa duração), garantido suas ocorrências nas mesmas condições psicofisiológicas do sujeito. Em função da robustez da resposta obtida pela composição dos indicadores e pela viabilidade da determinação de limiares, foi possível identificar a privação do sono nos sujeitos avaliados com um $V_P = 93,8\%$.

É importante ressaltar que a portabilidade e a praticidade de operação do dispositivo desenvolvido viabilizam sua aplicação além dos limites de um laboratório. Este dispositivo dispensa a necessidade de um corpo técnico para sua operação e demanda um curto tempo de

preparação do sujeito (≈ 2 min), o que é fundamental para aplicações em larga escala nas atividades clínicas e cotidianas (Kirsch *and* Adusumilli, 2009). O alarme sonoro característico do PVT auxilia na coleta de dados pupilométricos, evitando assim longos trechos de olho fechado. Também minimiza/elimina a necessidade do aplicador “despertar o sujeito” nestas situações, que são frequentes nos ensaios de pupilometria para sujeitos privados do sono.

Considerando que os objetivos propostos para este trabalho foram alcançados, a integração da pupilometria e do PVT em um único dispositivo suscita uma nova investigação sobre uma possível oscilação evocada na pupila. Para sujeitos com privação do sono, o comportamento característico da pupila é de uma oscilação em baixa frequência ($< 0,5$ Hz) e uma constrição progressiva da pupila ao longo do tempo (Ludtke *et al.*, 1998; Wilhelm *et al.*, 2009). Por outro lado, estando o sujeito submetido a uma atividade atencional, como o PVT, a pupila tende a dilatar (Heitz *et al.*, 2008; Jainta *and* Baccino, 2010). Dessa forma, estes dois comportamentos irão atuar de forma antagônica o que pode provocar uma oscilação evocada.

Novas propostas de investigação podem se balizar nas diversas medidas disponibilizadas pelo dispositivo como: diâmetro de pupila em valores absolutos, abertura de pálpebra em relação ao diâmetro estimado, diversas variáveis relativas ao PVT descritas em Basner e Dinges (2011), discriminação entre lapsos de olho aberto e fechado, dentre outras. Embora o sistema possua um conjunto de medidas predefinidas, vale ressaltar que o esforço empregado no desenvolvimento do *hardware* e do *software* capacita a equipe a implementar novas funcionalidades (*software*) e possíveis expansões (*hardware*) para atender experimentos futuros que se baseiem em novos paradigmas.

CAPÍTULO 6 - CONCLUSÃO E DESENVOLVIMENTO FUTURO

Os protótipos descritos nesta tese, a partir da plataforma configurável de aquisição de imagens, fornecem uma solução completa, flexível e de baixo custo para medições pupilométricas com base nas quais numerosas pesquisas e aplicações clínicas podem ser desenvolvidas.

Dentre as características do protótipo portátil destacam-se: (1) a máscara de isolamento da luz ambiente evitando assim a modulação da pupila, ideal para testes de pupila que necessitam de condições de luz mesoscópica estável ou escotópicas, tais como aqueles normalmente aplicados em cirurgia refrativa (Rosen *et al.*, 2002; Schnitzler *et al.*, 2000) ou relacionados à avaliações de sonolência (Lowenstein *et al.*, 1963; Wilhelm *et al.*, 2001; Wilhelm *et al.*, 2009; Wilhelm *et al.*, 1998); (2) a configuração da relação pixel/mm, que viabiliza a realização de medidas absolutas do diâmetro da pupila; (3) a distância entre a câmera e o olho, que é mantida fixa ao longo do ensaio, mesmo com realização de movimentos pelo sujeito. Esta característica além de preservar a relação pixel/mm, realizada no início do exame, evita erros de estimação do diâmetro da pupila; (4) a iluminação IR e a estimulação visual via LED, que são realizadas por meio dos I/Os da própria câmera.

Já o protótipo fixo agrega outras funcionalidades tais como: (1) estimulação sincronizada com a captura; (2) a câmera pode ser mantida distante do sujeito, não obstruindo o seu campo de visão; (3) permite a inserção na própria imagem de uma codificação que identifique o padrão da estimulação utilizada no ensaio. Este protótipo é efetivamente utilizado numa ampla variedade de cenários experimentais concebidos, por exemplo, para diagnosticar lesões em vários estágios de processamento do sistema visual (Barbur *et al.*, 2004; Loewenfeld, 1999) ou para avaliar as medidas pupilares aplicadas em distúrbios psiquiátricos (Granholt *et al.*, 2003).

Em relação ao *hardware* da plataforma, uma característica que a distingue reside na utilização de um módulo de aquisição independente (câmera digital) com base em IIDC - interface IEEE1394a, o que elimina a necessidade de placa de aquisição de imagem. Em geral, para aplicações de processamento de imagens biomédicas, câmeras FireWire têm um reconhecido potencial para fornecer soluções abrangentes, de alto desempenho e de boa relação custo-benefício. Além disso, elas estão amplamente disponíveis no mercado e conta com especificação técnica padronizada e um grande grupo de usuários que dominam o uso de

sua tecnologia que ajuda a sustentar e impulsionar sua posição no mercado. Mais especificamente em relação aos protótipos desenvolvidos com a plataforma, várias características associadas com a interface da câmera FireWire provou ser de grande benefício, tais como: (1) capacidade de fornecimento de energia da câmera via conexão IEEE1394, reduzindo riscos de introdução de ruídos a partir de fontes externas, uma característica de particular importância quando as medições da pupila são realizadas em paralelo com gravações de biopotenciais; (2) *timestamps* que possibilitam a identificação e correção da perda de quadros inerente aos sistemas operacionais que não dão suporte a tempo real, como o Windows, (3) a inserção de rótulos digitais na própria imagem para identificar as variáveis experimentais, tais como estímulos sensoriais ou eventos comportamentais; (4) saídas digitais para sincronização precisa e disparo de outros dispositivos, (5) diferentes métodos de sincronização. Além disso, a câmera FireFly MV, em particular, utilizada nestes protótipos tem a grande vantagem de ser flexível e adaptável em diferentes *set-ups* experimentais, devido ao seu formato físico compacto e caixa desmontável.

Embora as câmeras digitais baseadas no padrão IIDC / IEEE1393 agreguem diversas características conforme descrito, existe uma tendência de descontinuidade da disponibilização deste tipo de conexão em computadores portáteis, entretanto esta limitação não ocorre para os computadores pessoais de mesa onde tal conexão é oferecida com a integração de placa PCI.

A reprodução ou modificação dos protótipos aqui descritos são facilitadas não só por suas estruturas de *hardware* baseadas em plataformas PC e padrão da câmera (IIDC / IEEE1393), mas também pelo ambiente de programação Labview e a filosofia do *software* com módulos independentes empregado na plataforma. O Labview é uma linguagem de programação gráfica de alto nível, de fácil aprendizagem, otimizada para rápido desenvolvimento e depuração em tempo de execução. Possui um rico conjunto de opções de visualização de dados, bibliotecas para capturar e processar imagens (NIVision) e suporta interações com diversas linguagens de programação (por exemplo MatLab, C / C + +), proporcionando uma grande flexibilidade de estratégias de programação fortemente baseadas em reutilização de código. A estrutura modular do software, separando a aquisição de imagens *on-line* da análise de dados *offline*, oferece opções interessantes para a adaptação de métodos pupilométricos em função de necessidades experimentais específicas.

O custo final da plataforma é dependente do *software* proprietário LabView, cuja ferramenta básica permite gerar código executável sem necessidade de aquisição de licença,

entretanto isto não procede para os pacotes adicionais de *software*, tais como o NIVision e o *driver* IMQAdx utilizados nesta plataforma.

Vale mencionar que, embora originalmente desenvolvido como sistemas monoculares, os protótipos portátil e fixo podem ser modificados para suportar uma segunda câmera (MV FireFly). Essa configuração binocular pode ser conseguida simplesmente instalando uma placa PCI com duas portas *Firewire* no PC e modificando ligeiramente a parte do *software* de aquisição de imagem. Nos testes realizados com esta nova configuração, não ocorreram mudanças significativas no desempenho. Isso demonstra novamente outras vantagens do uso de câmeras *FireWire* no contexto de tempo real e na demanda assíncrona de *I/O*, que são em princípio garantidos para múltiplos dispositivos baseados no padrão IIDC - IEEE1394a e com carga mínima da CPU.

Finalmente, é possível concluir que o objetivo geral proposto nesta tese, especificamente a construção da plataforma (*hardware/software*) para aquisição de imagens, foi atingido e sua flexibilidade de configuração foi mostrada por meio da construção e aplicação de dois protótipos. Dentre as reconfigurações realizadas na plataforma destacam-se: no *software*, a utilização de módulos de programas específicos para extração de indicadores, captura e processamento de imagens e, em relação ao *hardware*, a adaptabilidade de suas interfaces, a possibilidade de sincronização (estímulo/captura), a amostragem determinística e a identificação de perda de quadros. A plataforma pode atingir resolução espacial e temporal próxima da faixa estabelecida pelos equipamentos comerciais (0,01 a 0,1 mm e 15 a 120 Hz) aplicados à pupilometria. A possibilidade de alimentação da câmera, via conexão IEEE1394, minimiza a inserção de ruídos, que é uma característica de particular importância quando as medições da pupila são realizadas em paralelo com gravações de biopotenciais.

Na configuração para o estudo do RPL (Reflexo pupilar à luz) foram obtidas métricas tais como: constrição máxima da pupila, latência, tempo de constrição, tempo de dilatação, velocidades de constrição e dilatação. Esta mesma plataforma também foi aplicada na avaliação do piscamento espontâneo e evocado (Vieira *et al.*, 2011).

Já na configuração para avaliação da privação de sono foram obtidos simultaneamente múltiplos indicadores e estabelecido limiares para a identificação com sucesso da sonolência induzida por privação de sono, para os períodos de 24 e 36 horas. Somadas às características técnicas, destacam-se a portabilidade e praticidade de operação do protótipo que viabiliza sua aplicação além dos limites de um laboratório tais como ambientes de trabalho.

Dentre os possíveis refinamentos do *hardware* destacam-se: o estabelecimento de iluminação homogênea indireta, por meio de reflexão de luz, que suprima da imagem o reflexo da córnea relativo às fontes de luz IR; a captura de imagens para um sistema binocular que já foi avaliada com sucesso por meio de um módulo de programa específico. Os resultados obtidos para avaliação da perda de quadros mostraram um desempenho similar às capturas monoculares. Especificamente para a plataforma portátil, seria interessante viabilizar que o ajuste de foco e o reposicionamento da câmera possam ser realizados mesmo após a colocação da máscara.

Relativamente ao *software*, é possível implementar novos algoritmos de processamento de imagem capazes de detectar de forma automática a dinâmica da pálpebra. Dessa forma, seria possível avaliar de forma precisa a dinâmica da pálpebra e, conseqüentemente, os tempos relacionados ao piscamento. Além disso, há ainda a possibilidade de implementação de técnicas de compactação de dados, resguardando as informações de *timestamp* e dos *I/Os* presentes na imagem sem inserir perdas de quadros durante o processo de captura.

Considerando o processamento *offline*, uma das limitações da plataforma, deve-se avaliar a possibilidade de migração parcial ou total para *hardware* das etapas de compactação, de segmentação e de estimação do diâmetro da pupila. Uma solução seria a utilização de placas como a micro-line[®] C6713 Compact, que integra numa única plataforma um DSP de alto desempenho, FPGA (*Field program gate array*) e a conexão IEEE1394. Esta solução também elimina a necessidade de conector IEEE1394 no computador.

Dentre as pesquisas em andamento com o protótipo portátil, encontra-se em estágio de investigação a interferência do ritmo circadiano nos indicadores de sonolência. Nessa mesma investigação, é possível avaliar a existência de uma oscilação evocada devido ao efeito antagônico da dilatação e contração da pupila provenientes, respectivamente, da estimulação visual e do efeito da privação do sono.

Devido à capacidade da pupila de responder a estímulos de todas as modalidades sensoriais do corpo (Tryon, 1975), diversos trabalhos potenciais podem ser realizados com os equipamentos de estimulação visual (Pinto *et al.*, 2011) e térmica (Collina *et al.*, 2010) desenvolvidos no NEPEB associados a atividade elétrica cerebral (EEG).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alexandridis E. Oscillations in the pigeon's pupil servomechanism in relation to illumination. *Experientia*, 1967; 23: 154-155.
- AMTech PG. Pupillographic Sleepiness Test (<http://www.amtech.de/en/products/psteco>). 2008.
- Anderson C, Wales AW, Horne JA. PVT lapses differ according to eyes open, closed, or looking away. *Sleep*, 2010; 33: 197-204.
- Arrington Research I. ViewPoint EyeTracker - Software User Guide.2009: 248.
- Association T. IIDC 1394-based Digital Camera Specification.2004: 85.
- Bar KJ, Boettger MK, Schulz S, Harzendorf C, Agelink MW, Yeragani VK, Chokka P, Voss A. The interaction between pupil function and cardiovascular regulation in patients with acute schizophrenia. *Clin Neurophysiol*, 2008; 119: 2209-2213.
- Barbur JL. Learning from the pupil: Studies of basic mechanisms and Clinical Applications. In Chalupa LM, Werner JS, editors. *The Visual Neurosciences*. Bradford Books: London, 2003: 641-656.
- Barbur JL, Moro S, Harlow JA, Lam BL, Liu M. Comparison of pupil responses to luminance and colour in severe optic neuritis. *Clin Neurophysiol*, 2004; 115: 2650-2658.
- Barbur JL, Prescott NB, Douglas RH, Jarvis JR, Wathes CM. A comparative study of stimulus-specific pupil responses in the domestic fowl (*Gallus gallus domesticus*) and the human. *Vision Res*, 2002; 42: 249-255.
- Baron J, Pinto L, Dias MO, Lima B, Neuenschwander S. Directional responses of visual wulst neurones to grating and plaid patterns in the awake owl. *Eur J Neurosci*, 2007; 26: 1950-68.
- Basner M, Dinges DF. Maximizing sensitivity of the psychomotor vigilance test (PVT) to sleep loss. *Sleep*, 2011; 34: 581-591.
- Batenburg KJ, Sijbers J. Optimal threshold selection for tomogram segmentation by reprojection of the reconstructed image. *Lecture Notes in Computer Science*, 2007; 4673:563-570.
- Beatty J. Task-evoked pupillary responses, processing load, and the structure of processing resources. *Psychol Bull*, 1982; 91: 276-292.
- Beck AT, Ward CH, Mendelson M, Mock J, Erbaugh J. An inventory for measuring depression. *Arch Gen Psychiatry*, 1961; 4: 561-571.
- Benedetto S, Pedrotti M, Minin L, Baccino T, Re A, Montanari R. Driver workload and eye blink duration. *Transportation Research Part F*, 2011: 199-208.
- Benedito-Silva AA, Menna-Barreto L, Marques N, Tenreiro S. A self-assessment questionnaire for the determination of morningness-eveningness types in Brazil. *Prog Clin Biol Res*, 1990; 341B: 89-98.
- Bernhardt PC, JR. JMD, Riad JK. Pupillometry system for use in social psychology. *Behavior Research Methods, Instruments. & Computers*, 1996; 28 61-66.
- Bishop LG, Stark L. Pupillary Response of the Screech Owl, *Otus asio*. *Science*, 1965; 148: 1750-1752.

- Bitsios P, Schiza SE, Giakoumaki SG, Savidou K, Alegakis AK, Siafakas N. Pupil miosis within 5 minutes in darkness is a valid and sensitive quantitative measure of alertness: application in daytime sleepiness associated with sleep apnea. *Sleep*, 2006; 29: 1482-1488.
- Bjerner B, Holm A, Swensson A. Diurnal variation in mental performance; a study of three-shift workers. *Br J Ind Med*, 1955; 12: 103-110.
- Bootsma S, Tahzib N, Eggink F, de Brabander J, Nuijts R. Comparison of two pupillometers in determining pupil size for refractive surgery. *Acta Ophthalmol Scand*, 2007; 85: 324-328.
- Bracha V, Nilaweera W, Zenitsky G, Irwin K. Video recording system for the measurement of eyelid movements during classical conditioning of the eyeblink response in the rabbit. *J Neurosci Methods*, 2003; 125: 173-181.
- Bradley JC, Anderson JE, Xu KT, Brown SM. Comparison of Colvard pupillometer and infrared digital photography for measurement of the dark-adapted pupil diameter. *J Cataract Refract Surg*, 2005; 31: 2129-2132.
- Bradley JC, Cohn CD, Wu PW, Brown SM. Comparison of a monocular pupillometer and the pupillometry function of a binocular free-viewing autorefractor. *J Cataract Refract Surg*, 2011; 37: 1257-1262.
- Bremner F. Pupil evaluation as a test for autonomic disorders. *Clin Auton Res*, 2009; 19: 88-101.
- Caffier PP, Erdmann U, Ullsperger P. Experimental evaluation of eye-blink parameters as a drowsiness measure. *Eur J Appl Physiol*, 2003; 89: 319-325.
- Caffier PP, Erdmann U, Ullsperger P. The spontaneous eye-blink as sleepiness indicator in patients with obstructive sleep apnoea syndrome-a pilot study. *Sleep Med*, 2005; 6: 155-162.
- Canny J. A computational approach to edge detection. *IEEE Trans Pattern Anal Mach Intell*, 1986; 8: 679-698.
- Carpenter MB, Pierson RJ. Pretectal region and the pupillary light reflex. An anatomical analysis in the monkey. *J Comp Neurol*, 1973; 149: 271-300.
- Carskadon MA, Dement WC. Effects of total sleep loss on sleep tendency. *Percept Mot Skills*, 1979; 48: 495-506.
- Chaglasian EL, Akbar S, Probst LE. Pupil measurement using the Colvard pupillometer and a standard pupil card with a cobalt blue filter penlight. *J Cataract Refract Surg*, 2006; 32: 255-260.
- Chaidaroon W, Juwattanasomran W. Colvard pupillometer measurement of scotopic pupil diameter in emmetropes and myopes. *Jpn J Ophthalmol*, 2002; 46: 640-644.
- Chen T-C, Chung K-L. An Efficient Randomized Algorithm for Detecting Circles. *Computer Vision and Image Understanding*, 2001; 83: 172-191.
- Chicago UoIa. Center for Narcolepsy, Sleep and Health Research <http://www.uic.edu/orgs/cnshr/about-us.html>. 2006.
- Collina DD, Couto JL, Vasconcellos TR, Oliveira JR, Villarroel MF e Tierra-Criollo CJ. Bioestimulador térmico com formas de onda variadas. XXII Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica, 2010; 449 – 452.

- Cooper ML, Pettigrew JD. A neurophysiological determination of the vertical horopter in the cat and owl. *J Comp Neurol*, 1979; 184: 1-26.
- Curcio G, Casagrande M, Bertini M. Sleepiness: evaluating and quantifying methods. *Int J Psychophysiol*, 2001; 41: 251-263.
- D'orazio T, LEO M, SPAGNOLO P, NITTI M, MOSCA N, DISTANTE A. A visual system for real time detection of goal events during soccer matches. *Computer Vision and Image Understanding*, 2009; 113: 622-632.
- De Santis A, Iacoviello D. Optimal segmentation of pupillometric images for estimating pupil shape parameters. *Comput Methods Programs Biomed*, 2006; 84: 174-187.
- Dinges DF, Powell JW. Microcomputer analyses of performance on a portable, simple visual RT task during sustained operations. *Behavior Research methods, Instruments & Computers*, 1985; 16: 652-655.
- Divjak M, Bischof H. Eye blink based fatigue detection for prevention of Computer Vision Syndrome. *MVA2009 IAPR Conference on Machine Vision Applications*, 2009.
- Duda RO, Hart PE. Use of the Hough Transformation To Detect Lines and Curves in Pictures. *Graphics and Image processing* 1972; 15: 11-15.
- Duffey RJ, Leaming D. Trends in refractive surgery in the United States. *J Cataract Refract Surg*, 2004; 30: 1781-1785.
- Dutsch M, Marthol H, Michelson G, Neundorfer B, Hilz MJ. Pupillography refines the diagnosis of diabetic autonomic neuropathy. *J Neurol Sci*, 2004; 222: 75-81.
- Fan X, Miles JH, Takahashi N, Yao G. Abnormal transient pupillary light reflex in individuals with autism spectrum disorders. *J Autism Dev Disord*, 2009; 39: 1499-1508.
- Ferrari GL. Pupilometria Dinâmica. Tese de doutorado - Universidade Tecnológica Federal Do Paraná - Curitiba, 2008: 102.
- Ferrari GL, Marques JL, Gandhi RA, Heller SR, Schneider FK, Tesfaye S, Gamba HR. Using dynamic pupillometry as a simple screening tool to detect autonomic neuropathy in patients with diabetes: a pilot study. *Biomed Eng Online*, 2010; 9: 26.
- Folk JC, Thompson HS, Farmer SG, O'Gorman TW, Dreyer RF. Relative afferent pupillary defect in eyes with retinal detachment. *Ophthalmic Surg*, 1987; 18: 757-759.
- Fotiou DF, Stergiou V, Tsiptsios D, Lithari C, Nakou M, Karlovasitou A. Cholinergic deficiency in Alzheimer's and Parkinson's disease: evaluation with pupillometry. *Int J Psychophysiol*, 2009; 73: 143-149.
- Fotiou F, Fountoulakis KN, Goulas A, Alexopoulos L, Palikaras A. Automated standardized pupillometry with optical method for purposes of clinical practice and research. *Clin Physiol*, 2000; 20: 336-347.
- Fountas KN, Kapsalaki EZ, Machinis TG, Boev AN, Robinson JS, Troup EC. Clinical implications of quantitative infrared pupillometry in neurosurgical patients. *Neurocrit Care*, 2006; 5: 55-60.
- Franzen PL, Siegle GJ, Buysse DJ. Relationships between affect, vigilance, and sleepiness following sleep deprivation. *J Sleep Res*, 2008; 17: 34-41.

- Frauscher B, Egg R, Brandauer E, Ulmer H, Berger T, Poewe W, Hogl B. Daytime sleepiness is not increased in mild to moderate multiple sclerosis: a pupillographic study. *Sleep Med*, 2005; 6: 543-547.
- Gamlin PD, Reiner A, Erichsen JT, Karten HJ, Cohen DH. The neural substrate for the pupillary light reflex in the pigeon (*Columba livia*). *J Comp Neurol*, 1984; 226: 523-543.
- Gillberg M, Kecklund G, Akerstedt T. Relations between performance and subjective ratings of sleepiness during a night awake. *Sleep*, 1994; 17: 236-241.
- Goldwater BC. Psychological significance of pupillary movements. *Psychol Bull*, 1972; 77: 340-355.
- Gonzalez RCE, Woods RE. *Digital Image Processing*. Addison-Wesley Publishing Company, 1992.
- Gorenstein C, Pompeia S, Andrade L. Scores of Brazilian University students on the Beck Depression and the State Trait Anxiety Inventories. *Psychol Rep*, 1995; 77: 635-641.
- Granda AM, Dearworth JR, Jr., Kittila CA, Boyd WD. The pupillary response to light in the turtle. *Vis Neurosci*, 1995; 12: 1127-1133.
- Granholm E, Morris S, Galasko D, Shults C, Rogers E, Vukov B. Tropicamide effects on pupil size and pupillary light reflexes in Alzheimer's and Parkinson's disease. *Int J Psychophysiol*, 2003; 47: 95-115.
- Granholm E, Steinhauer SR. Pupillometric measures of cognitive and emotional processes. *Int J Psychophysiol*, 2004; 52: 1-6.
- Granholm E, Verney SP. Pupillary responses and attentional allocation problems on the backward masking task in schizophrenia. *Int J Psychophysiol*, 2004; 52: 37-51.
- Hachol A, Szczepanowska-Nowak W, Kasprzak H, Zawojcka I, Dudzinski A, Kinasz R, Wygledowska-Promienska D. Measurement of pupil reactivity using fast pupillometry. *Physiol Meas*, 2007; 28: 61-72.
- Hammond P, Mouat GS. The relationship between feline pupil size and luminance. *Exp Brain Res*, 1985; 59: 485-490.
- Heitz RP, Schrock JC, Payne TW, Engle RW. Effects of incentive on working memory capacity: behavioral and pupillometric data. *Psychophysiology*, 2008; 45: 119-129.
- Hirshkowitz M, CUEVA LDL, HERMAN JH. The multiple vigilance test. *Behavior Research Methods, Instruments, and Computers*, 1993; 25: 272-275.
- Hoddes E, Zarcone V, Smythe H, Phillips R, Dement WC. Quantification of sleepiness: a new approach. *Psychophysiology*, 1973; 10: 431-436.
- Hori N, Takamori M, Hirayama M, Watanabe H, Nakamura T, Yamashita F, Ito H, Mabuchi N, Sobue G. Pupillary supersensitivity and visual disturbance in Parkinson's disease. *Clin Auton Res*, 2008; 18: 20-27.
- Horne JA, Baulk SD. Awareness of sleepiness when driving. *Psychophysiology*, 2004; 41: 161-165.
- Horne JA, Ostberg O. A self-assessment questionnaire to determine morningness-eveningness in human circadian rhythms. *Int J Chronobiol*, 1976; 4: 97-110.

- Horne JA, Reyner LA. Counteracting driver sleepiness: effects of napping, caffeine, and placebo. *Psychophysiology*, 1996; 33: 306-309.
- Hu S, Zheng G. Driver drowsiness detection with eyelid related parameters by Support Vector Machine. *Expert Systems with Applications*, 2009: 7951-7658.
- Ibrahim AE, Feldman J, Karim A, Kharasch ED. Simultaneous assessment of drug interactions with low- and high-extraction opioids: application to parecoxib effects on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of fentanyl and alfentanil. *Anesthesiology*, 2003; 98: 853-861.
- ICNIRP ICoN-IRP. Guidelines on limits of exposure to broad-band incoherent optical radiation. Health Physics Societ, 1997: 539-554.
- Ingre M, Akerstedt T, Peters B, Anund A, Kecklund G. Subjective sleepiness, simulated driving performance and blink duration: examining individual differences. *J Sleep Res*, 2006; 15: 47-53.
- Instruments N. The NI TDMS File Format <http://www.ni.com/white-paper/3727/en> 2012.
- Jainta S, Baccino T. Analyzing the pupil response due to increased cognitive demand: an independent component analysis study. *Int J Psychophysiol*, 2010; 77: 1-7.
- Johns MW. A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth sleepiness scale. *Sleep*, 1991; 14: 540-545.
- Johnson EO, Breslau N, Roth T, Roehrs T, Rosenthal L. Psychometric evaluation of daytime sleepiness and nocturnal sleep onset scales in a representative community sample. *Biol Psychiatry*, 1999; 45: 764-770.
- Kaida K, Takahashi M, Akerstedt T, Nakata A, Otsuka Y, Haratani T, Fukasawa K. Validation of the Karolinska sleepiness scale against performance and EEG variables. *Clin Neurophysiol*, 2006; 117: 1574-1581.
- Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM, editors. *Principles of Neural Science*. McGraw-Hill: New York, 2000.
- Kardon RH, Kirkali PA, Thompson HS. Automated pupil perimetry. Pupil field mapping in patients and normal subjects. *Ophthalmology*, 1991; 98: 485-95; discussion 95-96.
- Kim H, Dinges DF, Young T. Sleep-disordered breathing and psychomotor vigilance in a community-based sample. *Sleep*, 2007; 30: 1309-1316.
- Kirsch D, Adusumilli J. Multiple Sleep Latency Test and Maintenance of Wakefulness Test. *Sleep Medicine Clinics*, 2009: 385-392.
- Kohnen T, Terzi E, Bühren J, Kohnen EM. Comparison of a digital and a handheld infrared pupillometer for determining scotopic pupil diameter. *J Cataract Refract Surg*, 2003; 29: 112-117.
- Kojima M, Shioiri T, Hosoki T, Kitamura H, Bando T, Someya T. Pupillary light reflex in panic disorder. A trial using audiovisual stimulation. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 2004; 254: 242-244.
- Koudas V, Nikolaou A, Hourdaki E, Giakoumaki SG, Roussos P, Bitsios P. Comparison of ketanserin, buspirone and propranolol on arousal, pupil size and autonomic function in healthy volunteers. *Psychopharmacology (Berl)*, 2009; 205: 1-9.

- Larson MD, Tayefeh F, Sessler DI, Daniel M, Noorani M. Sympathetic nervous system does not mediate reflex pupillary dilation during desflurane anesthesia. *Anesthesiology*, 1996; 85: 748-754.
- Lee IS, Bardwell WA, Ancoli-Israel S, Dimsdale JE. Number of lapses during the psychomotor vigilance task as an objective measure of fatigue. *J Clin Sleep Med*, 2010; 6: 163-168.
- Levine J. Consensual pupillary response in birds. *Science*, 1955; 122: 690.
- Li T, Howland HC. A true neuronal consensual pupillary reflex in chicks. *Vision Res*, 1999; 39: 897-900.
- Lim J, Dinges DF. Sleep deprivation and vigilant attention. *Ann N Y Acad Sci*, 2008; 1129: 305-322.
- Lisper HO, Kjellberg A. Effects of 24-hour sleep deprivation on rate of decrement in a 10-minute auditory reaction time task. *J Exp Psychol*, 1972; 96: 287-290.
- Liu D, Pang Z, Lloyd SR. A neural network method for detection of obstructive sleep apnea and narcolepsy based on pupil size and EEG. *IEEE Trans Neural Netw*, 2008; 19: 308-318.
- Loewenfeld IE. Otto Lowenstein: neurologic and ophthalmologic testing methods during his lifetime. *Doc Ophthalmol*, 1999; 98: 3-20.
- Lowenstein O, Feinberg R, Loewenfeld IE. Pupillary movements during acute and chronic fatigue. *Investigative Ophthalmolog*, 1963; 2: 138-157.
- Lowenstein O, Loewenfeld IE. Electronic pupillography. A new instrument and some clinical applications. *Archives of Ophthalmology*, 1958; 59: 352-363.
- Lowenstein O, Loewenfeld IE. Mutual role of sympathetic and parasympathetic in shaping of the pupillary reflex to light; pupillographic studies. *Arch Neurol Psychiatry*, 1950a; 64: 341-377.
- Lowenstein O, Loewenfeld IE. Role of sympathetic and parasympathetic systems in reflex dilation of the pupil; pupillographic studies. *Arch Neurol Psychiatry*, 1950b; 64: 313-340.
- Lu W, Tan J, Zhang K, Lei B. Computerized mouse pupil size measurement for pupillary light reflex analysis. *Comput Methods Programs Biomed*, 2008; 90: 202-209.
- Ludtke H, Wilhelm B, Adler M, Schaeffel F, Wilhelm H. Mathematical procedures in data recording and processing of pupillary fatigue waves. *Vision Res*, 1998; 38: 2889-2896.
- Mann PJ. The kinetics of peroxidase action. *Biochem J*, 1931; 25: 918-930.
- Malbouisson JM, Messias A, Garcia DM, Cechetti Sde P, Barbosa JC, Cruz AA. Modeling upper eyelid kinematics during spontaneous and reflex blinks. *J Neurosci Methods*; 191: 119-25.
- McLaren JW, Erie JC, Brubaker RF. Computerized analysis of pupillograms in studies of alertness. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1992; 33: 671-676.
- McLaren JW, Hauri PJ, Lin SC, Harris CD. Pupillometry in clinically sleepy patients. *Sleep Med*, 2002; 3: 347-452.

- McLeod DR, Griffiths RR, E. Bigelow G, Yingling J. An automated version of the digit symbol substitution test (DSST). *Behavior Research Methods & Instrumentation*, 1982; 14(5), 463-466.
- Melamed S, Oksenberg A. Excessive daytime sleepiness and risk of occupational injuries in non-shift daytime workers. *Sleep*, 2002; 25: 315-322.
- Merritt SL, Schnyders HC, Patel M, Basner RC, O'Neill W. Pupil staging and EEG measurement of sleepiness. *Int J Psychophysiol*, 2004; 52: 97-112.
- Mitelman R, Joshua M, Adler A, Bergman H. A noninvasive, fast and inexpensive tool for the detection of eye open/closed state in primates. *J Neurosci Methods*, 2009; 178: 350-356.
- Mitler MM, Gujavarty KS, Browman CP. Maintenance of wakefulness test: a polysomnographic technique for evaluation treatment efficacy in patients with excessive somnolence. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 1982; 53: 658-661.
- Monk TH. Subjective ratings of sleepiness--the underlying circadian mechanisms. *Sleep*, 1987; 10: 343-353.
- Morad Y, Barkana Y, Zadok D, Hartstein M, Pras E, Bar-Dayyan Y. Ocular parameters as an objective tool for the assessment of truck drivers fatigue. *Accid Anal Prev*, 2009; 41: 856-860.
- Morad Y, Lemberg H, Yofe N, Dagan Y. Pupillography as an objective indicator of fatigue. *Curr Eye Res*, 2000; 21: 535-542.
- Moresi S, Adam JJ, Rijcken J, Van Gerven PW, Kuipers H, Jolles J. Pupil dilation in response preparation. *Int J Psychophysiol*, 2008; 67: 124-130.
- Morris TL, Miller JC. Electrooculographic and performance indices of fatigue during simulated flight. *Biol Psychol*, 1996; 42: 343-360.
- Murray J. The Epworth Sleepiness Scale <http://epworthsleepinessscale.com/about-epworth-sleepiness/>. 2010.
- Mylius V, Braune HJ, Schepelmann K. Dysfunction of the pupillary light reflex following migraine headache. *Clin Auton Res*, 2003; 13: 16-21.
- Nakayama M, Yamamoto K, Kobayashi F. Estimation of Sleepiness using Frequency Components of Pupillary Response. *Biomedical Circuits and Systems Conference, IEEE*, 2008; 357-360.
- NI NIC. NI Vision Assistant Tutorial: Austin, 2005.
- Nicoliello HL. Uma ferramenta morfométrica. Universidade de São Paulo: São Paulo, 2007: 22.
- Nikolaou A, Schiza SE, Giakoumaki SG, Roussos P, Siafakas N, Bitsios P. The 5-min pupillary alertness test is sensitive to modafinil: a placebo controlled study in patients with sleep apnea. *Psychopharmacology (Berl)*, 2008; 196: 167-175.
- Olejniczak PW, McGuire SM, Fisch BJ. A discussion of sleep. *Prim Care*, 2004; 31: 149-174.
- Patil SG, Gale TJ, Stack CR. Design of novel assessment techniques for opioid dependent patients. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*, 2007; 2007: 3737-3740.
- Pettigrew JD, Konishi M. Neurons selective for orientation and binocular disparity in the visual Wulst of the barn owl (*Tyto alba*). *Science*, 1976; 193: 675-678.

- Pinto MA, de Souza JK, Baron J, Tierra Criollo CJ. A low-cost, portable, micro-controlled device for multi-channel LED visual stimulation. *J Neurosci Methods*, 2011; 197: 82-91.
- Point Grey Research I. Firefly® MV Technical Reference Manual. Richmond, 2009: 53.
- Pop M, Payette Y, Santoriello E. Comparison of the pupil card and pupillometer in measuring pupil size. *J Cataract Refract Surg*, 2002; 28: 283-288.
- Porcu S, Casagrande M, Ferrara M, Bellatreccia A. Sleep and alertness during alternating monophasic and polyphasic rest-activity cycles. *Int J Neurosci*, 1998; 95: 43-50.
- Porter G, Troscianko T, Gilchrist ID. Effort during visual search and counting: insights from pupillometry. *Q J Exp Psychol (Hove)*, 2007; 60: 211-229.
- Pozzessere G, Rossi P, Valle E, Froio CP, Petrucci AF, Morocutti C. Autonomic involvement in multiple sclerosis: a pupillometric study. *Clin Auton Res*, 1997; 7: 315-319.
- Prasad B, Choi YK, Weaver TE, Carley DW. Pupillometric assessment of sleepiness in narcolepsy. *Front Psychiatry*, 2011; 2: 35.
- Rad AA, Faez K, Qaragozlu N. Fast Circle Detection Using Gradient Pair Vectors. *Proceedings VIIth Digital Image Computing: Techniques and Application*, 2003: 879-887.
- Ratcliff R, Van Dongen HP. Diffusion model for one-choice reaction-time tasks and the cognitive effects of sleep deprivation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011; 108: 11285-11290.
- Raven JC, Raven J, Court JH. Manual - Matrizes Progressivas Coloridas de Raven. Casa do Psicologo: São Paulo, 1988.
- Reimers S, Stewart N. Using Adobe Flash Lite on mobile phones for psychological research: Reaction time measurement reliability and interdevice variability. *Behav Res Methods*, 2008; 40: 1170-1176.
- Rhee FC-H, Shin YS. The IEEE International Conference on Fuzzy Systems. *IEEE TRANSACTIONS ON SYSTEMS, MAN AND CYBERNETICS*, 2003: 984-989.
- Richman JE, McAndrew KG, Decker D, Mullaney SC. An evaluation of pupil size standards used by police officers for detecting drug impairment. *Optometry*, 2004; 75: 175-182.
- Ropper AH, Brown RJ. *Principles of Neurology*. McGraw-Hill: New York, 1997.
- Rosen ES, Gore CL, Taylor D, Chitkara D, Howes F, Kowalewski E. Use of a digital infrared pupillometer to assess patient suitability for refractive surgery. *J Cataract Refract Surg*, 2002; 28: 1433-1438.
- Rovani AZ. Sistema para captura automática de imagens de íris. Curitiba, 2006.
- Rubin LS. Pupillometric studies of alcoholism. *Int J Neurosci*, 1980; 11: 301-308.
- Schaeffel F, Howland HC, Farkas L. Natural accommodation in the growing chicken. *Vision Res*, 1986; 26: 1977-1993.
- Schaeffel F, Wagner H. Barn owls have symmetrical accommodation in both eyes, but independent pupillary responses to light. *Vision Res*, 1992; 32: 1149-1155.
- Scheffel M, Kuehne C, Kohnen T. Comparison of monocular and binocular infrared pupillometers under mesopic lighting conditions. *J Cataract Refract Surg*, 2010; 36: 625-630.

- Schmid R, Wilhelm B, Wilhelm H. Naso-temporal asymmetry and contraction anisocoria in the pupillomotor system. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2000; 238: 123-128.
- Schnitzler EM, Baumeister M, Kohnen T. Scotopic measurement of normal pupils: Colvard versus Video Vision Analyzer infrared pupillometer. *J Cataract Refract Surg*, 2000; 26: 859-866.
- Semiconductors V. High Speed Infrared Emitting Diode, 850 nm, GaAlAs Double Hetero. 2010; 6.
- Siegle GJ, Ichikawa N, Steinhauer S. Blink before and after you think: blinks occur prior to and following cognitive load indexed by pupillary responses. *Psychophysiology*, 2008; 45: 679-687.
- Siegle GJ, Steinhauer SR, Thase ME. Pupillary assessment and computational modeling of the Stroop task in depression. *Int J Psychophysiol*, 2004; 52: 63-76.
- Skorkovska K, Wilhelm H. Afferent pupillary disorders in postchiasmal lesions of the visual pathways. *Klin Monbl Augenheilkd*, 2009; 226: 886-890.
- Souza JKS, Vieira PG, Tierra Criollo CJ, Baron J. PUPILLARY LIGHT REFLEX IN THE BURROWING OWL (*Athene cunicularia*). XXVI Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental (FeSBE), 2011.
- Spielberger CD, Gorsuch RL, Lushene RE. *Manual for the State-Trait Anxiety Inventory*. Consulting Psychologists Press: Palo Alto, CA., 1970.
- Steinbach MJ, Angus RG, Money KE. Torsional eye movements of the owl. *Vision Res*, 1974; 14: 745-746.
- Stern JA, Boyer D, Schroeder DJ. *Blink Rate As a Measure of Fatigue: A Review*. Office of Aviation Medicine Federal Aviation Administration: Washington, 1994.
- Sun C. Fast Circle Detection Using Gradient Pair Vectors. *Proceedings of VIIth Digital Image Computing: Techniques and Applications*, 2003: 879-887.
- Teikari P. *Automated Pupillometry*. Helsinki, 2007: 35.
- Telles SCL, Corrêa ÉA, Caversan BL, Mattos JdM, Alves RSC. Significado Clínico da Actigrafia. *Revista Neurociências*, 2011; 19: 53-161.
- Thompson HS, Watzke RC, Weinstein JM. Pupillary dysfunction in macular disease. *Trans Am Ophthalmol Soc*, 1980; 78: 311-317.
- Thompson S, Pilley SF. Unequal pupils. A flow chart for sorting out the anisocorias. *Surv Ophthalmol*, 1976; 21: 45-48.
- Tirunahari VL, Zaidi SA, Sharma R, Skurnick J, Ashtyani H. Microsleep and sleepiness: a comparison of multiple sleep latency test and scoring of microsleep as a diagnostic test for excessive daytime sleepiness. *Sleep Med*, 2003; 4: 63-67.
- Torsvall L, Akerstedt T, Gillander K, Knutsson A. Sleep on the night shift: 24-hour EEG monitoring of spontaneous sleep/wake behavior. *Psychophysiology*, 1989; 26: 352-358.
- Tryon WW. Pupillometry: a survey of sources of variation. *Psychophysiology*, 1975; 12: 90-93.

- Van Knippenberg FC, Passchier J, Heysteck D, Shackleton D, Schmitz P, Poublon RM, Van der Meche F. The Rotterdam Daytime Sleepiness Scale: a new daytime sleepiness scale. *Psychol Rep*, 1995; 76: 83-87.
- Vieira PG, Almeida F, Souza JKS, Pinto MAS, Sousa JPM, Tierra Criollo CJ, Baron J. DYNAMICS OF SPONTANEOUS AND REFLEX BLINKS IN THE BURROWING OWL (*Athene cunicularia*). XXVI Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental (FeSBE), 2011.
- Walsh JK, Muehlbach MJ, Schweitzer PK. Simulated assembly line performance following ingestion of cetirizine or hydroxyzine. *Ann Allergy*, 1992; 69: 195-200.
- Wang JG, E.Sung, R.Venkateswarlu. Estimating the eye gaze from one eye. *Computer Vision and Image Understanding*, 2005; 98: 83-103.
- Watanabe T, Oono S. A solid-state television pupillometer. *Vision Res*, 1982; 22: 499-505.
- Wilhelm B, Giedke H, Ludtke H, Bittner E, Hofmann A, Wilhelm H. Daytime variations in central nervous system activation measured by a pupillographic sleepiness test. *J Sleep Res*, 2001; 10: 1-7.
- Wilhelm BJ, Widmann A, Durst W, Heine C, Otto G. Objective and quantitative analysis of daytime sleepiness in physicians after night duties. *Int J Psychophysiol*, 2009; 72: 307-313.
- Wilhelm H. The pupil. *Curr Opin Neurol*, 2008; 21: 36-42.
- Wilhelm H, Ludtke H, Wilhelm B. Pupillographic sleepiness testing in hypersomniacs and normals. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 1998; 236: 725-729.
- Wilhelm H, Wilhelm B. Clinical applications of pupillography. *J Neuroophthalmol*, 2003; 23: 42-49.
- Wilkinson RT. Sleep deprivation. *Triangle*, 1968; 8: 162-166.
- Wilkinson RT, Houghton D. Field test of arousal: a portable reaction timer with data storage. *Hum Factors*, 1982; 24: 487-493.
- Williams HL, Giesecking CF, Lubin A. Some effects of sleep loss on memory. *Percept Mot Skills*, 1966; 23: 1287-1293.
- Xu L, Oja E, Kultanen P. A new curve detection method: Randomized Hough Transform (RHT). *Pattern Recognition Letters*, 1990; 11: 331-338.
- Zhang Y, Zhang Z, Zhang J. Automatic measurement of industrial sheetmetal parts with CAD data and non-metric image sequence. *Computer Vision and Image Understanding*, 2006; 102: 52-59.

APÊNDICE A - CONSIDERAÇÕES PARA O DESENVOLVIMENTO DE UMA PLATAFORMA DE AQUISIÇÃO DE IMAGENS PARA A PUPILOMETRIA

A pupilometria no contexto estático tem como desafio a qualidade da medida, pois nela devem ser informados valores precisos do centro e do raio da pupila ou uma descrição da forma do seu contorno que pode não se limitar a uma simplificação de um modelo geométrico representado por um círculo ou uma elipse (Bradley *et al.*, 2005; Fountas *et al.*, 2006). Nesse caso, fatores como o posicionamento da câmera em relação ao olho e o algoritmo responsável pela descrição da pupila devem ser encarados como os componentes mais críticos do sistema. Por outro lado, na pupilometria dinâmica, cujo alvo é o comportamento da pupila ao longo tempo (Nakayama *et al.*, 2008; Wilhelm *et al.*, 1998), devem ser também garantidos o determinismo da aquisição de imagens e a manipulação do grande volume de dados. A adoção de um sistema de aquisição com suporte a tempo real atende as exigências impostas pela pupilometria dinâmica. Entretanto, tal abordagem demanda uma plataforma de *hardware* e *software* dedicada, que na maioria das vezes depende de uma solução proprietária e, por consequência, de alto custo (AMTech, 2008; Research, 2011). Em contrapartida, pode-se adotar uma solução de baixo custo constituída de um computador pessoal e até mesmo de um sistema operacional sem suporte a tempo real. Embora o aspecto custo seja fundamental na concepção do projeto vale ressaltar que a flexibilidade de reconfiguração e a simplicidade na reprodutibilidade da plataforma devem ser garantidas. A seguir, serão descritos os diversos fatores que foram considerados na construção da plataforma configurável para aquisição de imagens, levando em conta as especificidades das aplicações direcionadas para pupilometria.

A.1. Especificação do hardware e software

O *hardware* deve ser de baixo custo e disponível comercialmente para garantir a longevidade da plataforma, colocando o computador pessoal padrão IBM PC como uma das melhores opções. A presença da interface de comunicação nativa na sua configuração elimina a instalação de placa adicional para recepção das imagens e torna mais simples o processo de integração e reconfiguração da plataforma. Já no aspecto do *software*, o baixo custo do sistema operacional Windows e sua ampla difusão comercial garantem um vasto repertório de ambientes de desenvolvimento de software destinados à construção das possíveis aplicações. Nesse contexto, destacam-se diversas ferramentas como Visual C++, Builder, MATLAB, LabView dentre outros que apresentam bibliotecas proprietárias NIVision (NI, 2008) ou código aberto OpenCV (Intel, 2001) aplicadas no processamento de imagem. Visando

atender a simplicidade de configuração da plataforma, sem a demanda de grande embasamento de *software*, foi escolhida a ferramenta proprietária Labview. Embora não privilegie o fator custo, prima pela simplicidade de sua linguagem gráfica, sendo também amplamente difundida em ambientes acadêmicos e de pesquisa. As escolhas adotadas para construção da plataforma apresentam limitações com relação ao determinismo de amostragem, que deve ser minimizado pelo módulo de captura e digitalização de imagem descrito no item 3.2.

A.2. Iluminação

Algumas características no processo de iluminação da pupila devem ser consideradas, tais como comprimento de onda da fonte de iluminação, posição da fonte de iluminação, intensidade e distribuição de luz na córnea.

Com relação ao comprimento de onda, a captura de imagem na pupilometria pode ser realizada com duas abordagens distintas: passiva e ativa. Na passiva, a imagem capturada é a luz refletida pelo olho, tendo como fonte a iluminação ambiente (luz visível 380-700 nm). Sua deficiência está na utilização de uma fonte de luz não controlada que contém um espectro com múltiplas componentes e é difusa. Já na ativa, uma fonte de luz externa é utilizada, podendo estar no espectro visível ou infravermelho (IR). No IR, a esclera e a pupila apresentam uma forte reflexão facilitando a extração do contorno da pupila, uma vez que a esclera e a íris refletem comprimentos de onda diferentes (diferentes cores). Já na luz visível, somente a esclera apresenta forte reflexão (Teikari, 2007). Outro aspecto a ser considerado é a modulação da pupila provocada pela luz visível, que é inexistente para a fonte de luz IR. Com relação ao comprimento de onda do IR, cabe ressaltar que existem três faixas distintas: IRA (780-1400 nm), IRB (1400-3000 nm) e IRC (3000 nm - 1 mm) (ICNIRP, 1997). Para a pupilometria, é utilizada a faixa IRA, pois as câmeras de vídeo utilizadas na maioria dos pupilômetros apresentam resposta até 900nm.

Warga *et al.* (2009) ressaltam um comportamento descrito por Loewnfeld, de que a luz no espectro visível induz oscilações espontâneas no diâmetro da pupila denominada “*pupillary unrest*” e, quando interrompida a luz, as oscilações cessam abruptamente. Também mostraram neste trabalho que a indução destas oscilações depende somente da intensidade da luz ambiente e não de atividade cerebral. Os autores concluíram que o acesso a trocas no nível de alerta só pode ser obtido via gravações da pupila em ambientes totalmente escuros.

Com relação à posição da fonte de iluminação, podem ser utilizadas duas técnicas: pupila clara ou escura (Teikari, 2007). Na técnica de pupila clara, a fonte de iluminação está no centro do eixo da câmera ou muito próxima. Nessa situação, a imagem gerada da região da pupila apresenta um tom claro, devido à característica reflexiva do fundo do olho. Já na técnica de pupila escura, a fonte de iluminação está fora do eixo da câmera sendo a região mais escura da imagem correspondente à pupila, pois maior reflexão ocorrerá na esclera e íris. Embora ambas as técnicas possam ser utilizadas a técnica de pupila escura é a mais frequente.

A intensidade da luz deve respeitar o limite de segurança para iluminação com LED IR, definido pelo *International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection* (ICNIRP) como sendo de $P_{MAX}=10 \text{ mW/cm}^2$ para faixa IRA, considerando uma exposição maior do que 1000s (ICNIRP, 1997). A intensidade de luz e sua distribuição sobre a imagem devem ser suficientes para que seja possível a realização da segmentação da imagem (Gonzalez and Woods, 1992), como por exemplo, separar as áreas relativas à íris e pupila.

A distribuição de luz na córnea garante a iluminação de toda região. Dessa forma, o ideal é a aplicação de uma fonte de luz com distribuição uniforme. Entretanto, quanto maior o número de fontes de luz presentes na iluminação, tanto maior será a quantidade de artefatos inseridos na imagem. Na Figura A1 este problema se apresenta mais evidenciado, sendo que neste caso existem duas fontes de iluminação. Estes artefatos prejudicam o processo de detecção e estimação, sendo mais crítico quando o reflexo se encontra na borda da pupila.

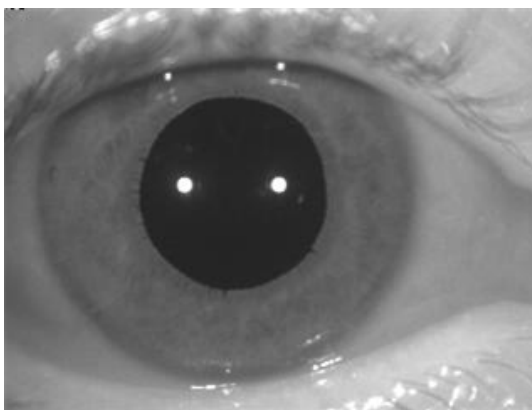


Figura A1- Reflexo das fontes de iluminação.

Para garantir maior flexibilidade da plataforma, o módulo de aquisição deve ser capaz de realizar ensaios em ambientes escotópicos e/ou com presença de luz ambiente. Dessa forma, deve ser garantida uma ampla faixa de resposta do sensor do módulo de aquisição.

A.3. Aquisição de imagens

Um módulo de aquisição de imagens é constituído basicamente de uma câmara analógica (Figura A2A) ou digital (Figura A2B). A câmara analógica necessita de unidade de digitalização, que pode ser uma placa O&M ou do próprio fabricante da câmara, que é instalada num computador pessoal onde os quadros serão digitalizados e armazenados. Já a câmara digital, além de fornecer a informação digitalizada, possui porta de comunicação compatível com as portas nativas (USB, Firewire e Ethernet) do computador, características que garantem a portabilidade e o menor custo.

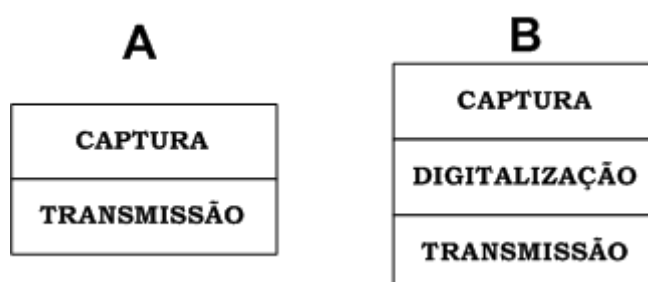


Figura A2- Sistema de aquisição de imagens.
(A) Estrutura do sistema analógico. (B) Estrutura do sistema digital.

Algumas câmeras digitais também fornecem juntamente com a imagem o *timestamp*, que é uma identificação temporal relativa à captura do quadro. Este recurso minimiza os efeitos característicos do sistema operacional adotado nesta plataforma, que não oferece suporte a tempo real.

Além da imagem capturada, existem diversos fatores que devem ser considerados no processo de aquisição da imagem.

A.3.1. Sincronização entre estimulação e aquisição de imagem

Existem diversas aplicações na pupilometria onde a estimulação não se faz necessária e, conseqüentemente, a sincronização não se aplica, como nos casos da pupilometria estática e algumas aplicações dinâmicas utilizadas no estudo de sonolência. Entretanto a sincronização se torna importante quando são avaliados tempo de latência, que corresponde ao tempo de uma estimulação, e a resposta pupilar. Dentre as aplicações estão as que associam a resposta pupilar à estimulação visual (Kardon *et al.*, 2009) e auditiva (Kitajima *et al.*, 2010) em testes psicofísicos. Dessa forma, o módulo de aquisição deve oferecer algum mecanismo de sincronização entre estímulo e aquisição de imagem.

A.3.2. Resolução Espacial

As câmeras digitais apresentam uma resolução espacial nominal, que é definida em função do número de pixels nos eixos X e Y presentes no seu sensor de imagens (Technology, 2004)(CCD - *charge-coupled device* ou CMOS - *complementary metal-oxide-semiconductor*). É possível alterar esta resolução reduzindo a região de interesse ou comprimindo a imagem por meio de um agrupamento de pixels adjacentes. A resolução espacial configurada na câmera reflete diretamente no processo de segmentação da imagem e define a resolução das medidas pupilométricas.

A.3.3. Resolução Temporal

A resolução temporal informa o número de quadros por segundo (FPS) fornecidos pela câmera, ou seja, indica a taxa de amostragem de quadros. Para uma determinada resolução espacial da câmera está associada uma resolução temporal. Na maioria das câmeras, esta resolução apresenta uma relação inversa e a flexibilidade de alterá-la, permite contemplar de forma mais eficiente a demanda da aplicação. Para pupilometria estática é indicado à máxima resolução espacial, enquanto na dinâmica, é necessário contemplar a máxima resolução temporal. Para o estudo de sonolência, eventos avaliados são as oscilações da pupila, cuja faixa é abaixo de 1 Hz, e a dinâmica palpebral, cujo evento tem duração média de 200 ms (Caffier *et al.*, 2003). Em Wilhelm and Wilhelm (2003) são apresentados diversos modelos de pupilômetros com taxas de aquisição que variam de 5 a 400 FPS.

A.3.4. Quantização da informação

Cada pixel da imagem apresenta uma informação que é representada por 2^N níveis, onde N é o número de bits. Nas câmeras comerciais o N assume valores de 8, 10 ou 12 bits por pixel o que garante respectivamente 256, 1024 e 4096 níveis de quantização. Um maior nível de quantização da informação garante um maior detalhamento nas bordas dos objetos presentes na cena, propiciando uma segmentação mais precisa (Scuri, 2002).

A.3.5. Ruídos na Câmera

Os ruídos presentes na câmera são função da resolução da câmera (*ISO setting*), tempo de exposição (*ISO speed*) e temperatura (Mchugh, 2007).

Quanto melhor a resolução do sensor, maior será a suscetibilidade ao ruído. Isso ocorre, pois quanto menor é a área do pixel, menor é a incidência de luz e, por consequência, sua sensibilização.

Já o tempo de exposição pequeno resulta em baixa sensibilização, tornando necessária a amplificação do sinal que, por consequência, provoca a amplificação do ruído, mas por outro lado ele permite a obtenção de taxas de quadros maiores, o que é extremamente útil na avaliação da dinâmica do piscamento. Um tempo longo de exposição ou uma temperatura excessiva provoca o aparecimento do *hot pixel*, que é caracterizado pela intensidade do pixel muito acima (saturação) de um ruído aleatório.

Em câmeras de alto custo o ruído térmico é minimizado com o acoplamento de células de Peltier. A câmera utilizada na plataforma (FireFly MV) foi desenvolvida para a faixa de temperatura de 0-45 °C, mostrando-se adequada para os ambientes de coleta das aplicações pupilométricas.

Para o processo de estimação de parâmetros da pupila, o principal problema dos ruídos é que eles tornam mais difícil a identificação da região de transição entre pupila e a íris. Entretanto, é muito comum em visão computacional a utilização de filtros espaciais que promovem a suavização da imagem minimizando os ruídos.

A.3.6. Normas de construção

As câmeras digitais apresentam diversas interfaces de comunicação serial, dentre elas a Ethernet, USB e IEEE1394. O IEEE1394 foi especialmente desenvolvido para comunicação de dispositivos multimídia e dá suporte para transmissão de imagens em tempo real (Yoshimoto *et al.*, 2001), o que não se pode afirmar para as demais interfaces.

Existem câmeras com interface de comunicação IEEE1394 que também estão em conformidade com o padrão IIDC (*Instrumentation & Industrial Digital Camera*) (Association, 2004) o qual estabelece normas de projeto que vão desde registros internos, formatos de vídeos a modos de operação. A utilização de câmera que segue tal regulamentação torna a plataforma mais flexível, pois não impõe uma dependência de um modelo específico de câmera. Existem modelos de câmeras USB (Point Grey Research, 2009a) que adotam a regulamentação IIDC, entretanto apresentam limitações nas suas funcionalidades como o *timestamp* dependente do *clock* do sistema.

Nesta plataforma foi escolhida a câmera FireFly MV (Point Grey Research, 2009b) que agrega a interface de comunicação multimídia (IEEE1394) e a especificação IIDC.

A.4. Processamento de imagem

O processamento das imagens para obtenção do sinal da dinâmica da pupila apresenta duas abordagens distintas: *online* e *offline*. Para processamento *online* geralmente são utilizados plataformas de *hardware* e *software* dedicados que podem fornecer como saída um nível de tensão ou um valor discreto para cada circunferência detectada. O diferencial desta abordagem é que o sinal de saída pode realimentar o sistema, redirecionando o ensaio dinamicamente. Por outro lado, esta abordagem geralmente só armazena a informação do diâmetro da pupila ao longo do tempo, o que inviabiliza futuro reprocessamento da imagem e estudo de parâmetros de piscamento. Esta abordagem é característica dos *eyetrackers* (AB, 2011; Arrington Research, 2009; ASL, 2005), cuja principal função é indicar a direção do olhar.

A abordagem *offline*, utilizada na grande maioria dos pupilômetros, captura a imagem e faz seu armazenamento no formato de vídeo em memória secundária (disco rígido)(AMTech, 2008). O processamento do vídeo é constituído das etapas de detecção e estimação do diâmetro da pupila assim como a identificação de eventos como o piscamento. Esta abordagem apresenta um tempo de processamento mais longo e demanda um grande espaço de disco para armazenamento dos filmes. Entretanto permite não só uma avaliação criteriosa do processamento, correções das estimações realizadas automaticamente e até mesmo o reprocessamento do vídeo sobre condições distintas (por exemplo, a estimação da pupila considerando a forma elíptica). Esta abordagem geralmente apresenta menor custo por não utilizar *hardware* dedicado.

A.5. Medidas em valores absolutos

As medidas de diâmetro de pupila estimadas pelo sistema são informadas em unidades de pixel. Por meio destas medidas podem ser avaliadas as variações do diâmetro da pupila e as oscilações pupilares. Entretanto valores absolutos podem agregar informação relevante na qualidade da medida. Considerando que a pupila ou qualquer outro elemento filmado tenha sua dimensão característica conhecida é possível identificar discrepâncias em seus valores absolutos informados pelo sistema.

A obtenção de medidas em valores absolutos é um desafio no projeto de dispositivos aplicados à pupilometria. Diversos são os equipamentos comerciais e protótipos divulgados em revistas científicas que não oferecem tal funcionalidade e quando disponibilizados, não apresentam a metodologia aplicada. Embora existam diversas técnicas, que de forma indireta,

viabilizam a obtenção de valores absolutos tais como: estereoscopia (Marshall *et al.*, 1991), variação de foco (Subbarao and Choi, 1995) e técnica de Moiré com recursos de fotogrametria (Borges, 2011), a aplicação destas técnicas envolve a inserção de novos elementos de *hardware* como uma segunda câmera, luz estruturada ou um sistema de precisão (mecânico e eletrônico) para ajuste de foco, que são inviabilizados pelas próprias dimensões físicas da configuração do protótipo portátil desenvolvido para a pupilometria humana. A utilização de um padrão (por exemplo, lantejola), embora menos elegante, é eficiente e prima pela simplicidade, sendo utilizado em equipamentos disponíveis no mercado de alto custo, como ASL Eye-Trac 6000 (ASL, 2005) da *Applied Science Laboratories* e no Ilink 1000 da *SR Research Eyelink*, como elemento de referência na versão onde a cabeça do sujeito encontra-se livre para movimentação.

O posicionamento da lantejola pode provocar um desalinhamento entre seu centro e o eixo da câmera de tal forma que esta fique descentralizada na imagem formada. Entretanto, no estágio atual de software não foi implementado um algoritmo que compense este possível desalinhamento. Para minimizar tal problema caberá ao examinador buscar a centralização da lantejola na pálpebra ou mesmo o reposicionamento da câmera (máscara) no momento da definição da relação.

Este mesmo problema ocorre em relação às imagens capturadas da pupila e também podem ser acentuados em função do direcionamento do olhar conforme apresentado na Figura A3. O direcionamento do olhar pode levar a situações indesejadas (Figura A3A e Figura A3C). Para viabilizar a condição da Figura A3B, a própria fonte de iluminação IR, na faixa A, possui uma componente de luz visível (vermelho) que produz um ponto de fixação para o sujeito, que só é percebida após um estágio de acomodação da pupila ao escuro. Com a máscara posicionada, cabe ao operador buscar o melhor enquadramento do olho (Figura A3B) em relação à imagem produzida pela câmera e instruir o sujeito para que busque a fixação do olhar nos pontos vermelhos a sua frente. Embora o software forneça para cada quadro o diâmetro da pupila e sua respectiva posição em relação à imagem, não é realizada uma compensação na medida de diâmetro da pupila.

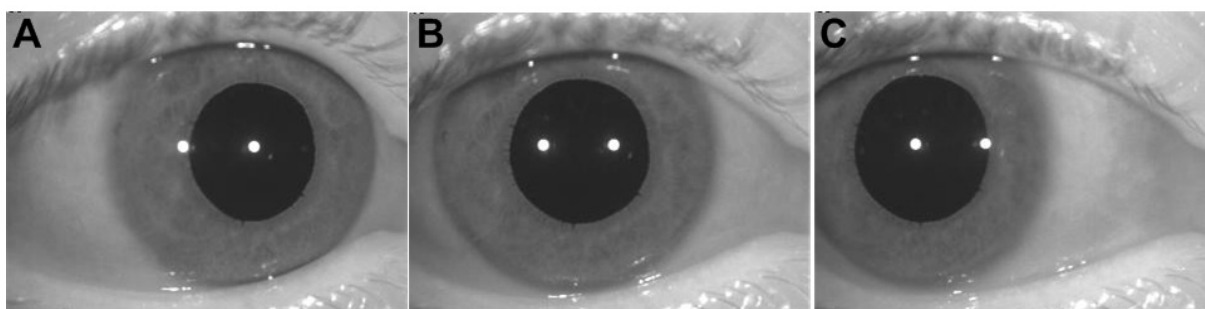


Figura A3 - Direcionamento do olhar para a câmera sobre ponto de vista do sujeito:
(A) esquerda, (B) central e (C) direita.

A.6. Distorções da lente

As lentes provocam distorções nas imagens devido ao seu projeto e ao processo de fabricação. Os principais tipos de aberrações de uma lente são: esférica, coma, astigmatismo, curvatura de campo, distorção radial e distorção cromática (Choi *et al.*, 2006). Entretanto, para lentes de baixo custo a distorção radial é a mais crítica, fazendo com que as linhas retas do objeto sejam projetadas como curvas na imagem. Isto ocorre devido à ampliação transversa, sendo esta função do raio com origem no eixo da lente. É como se para cada área da lente existisse uma ampliação e foco próprios. Este efeito pode se revelar em função da posição do objeto em relação à lente: ao se afastar da lente a ampliação diminui provocando o efeito barril (Figura A4B), enquanto que ao se aproximar da lente a ampliação aumenta, resultando no efeito almofada (Figura A4C).

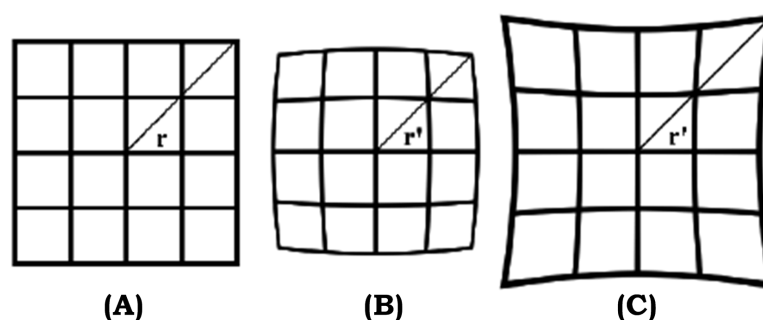


Figura A4 - Formação da imagem (A) sem distorção.
(B) distorção radial com o efeito barril e (C) distorção radial com o efeito almofada.
Fonte: Adaptado de Cyganek and Siebert (2009).

A maioria das câmeras presentes no mercado adota, por razões econômicas, lentes esféricas cuja distorção radial é uma característica inerente. A correção desta distorção é não linear e pode ser realizada aplicando algoritmos matemáticos como descrito por Cyganek e Siebert (2009).

Para a interface empregada na aplicação da pupilometria humana, cuja câmera encontra-se próxima ao olho, é necessário a utilização de lente com um grande ângulo de abertura, onde a distorção radial é mais acentuada. A imagem da Figura A5 mostra as linhas verticais e horizontais do papel milimetrado com o efeito barril. Esse exemplo simula a condição de coletas pupilométricas do protótipo portátil desenvolvido neste trabalho, com a distância do olho à lente de cerca de 30 mm.

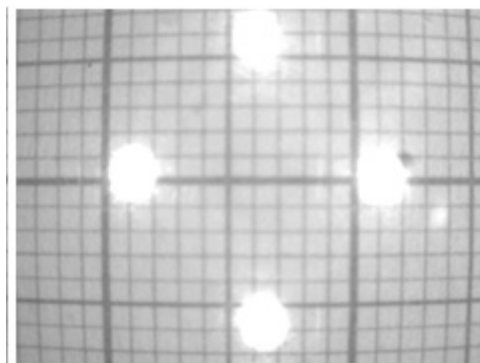


Figura A5 - Imagem de papel milimetrado posicionado a 30 mm da lente.
Distância típica para a plataforma de pupilometria humana.

A medida do diâmetro da pupila obtida nesta condição tem seu valor superestimado. A biblioteca NIVision apresenta uma ferramenta de *software* que viabiliza o levantamento da distorção radial da lente produzindo uma matriz de correção que deve ser aplicada à imagem antes do processo de detecção e estimação do diâmetro.

A.7. Ergonomia e Operabilidade

Visando sua aplicação clínica e para pesquisa a plataforma desenvolvida para pupilometria humana deve garantir um nível de conforto, principalmente para o estudo de sonolência onde a grande maioria da literatura aponta ensaios de longa duração (11 min). Existem interfaces aplicadas na pupilometria humana com suporte para apoio do queixo (Teikari, 2007) e adaptações em óculos ou máscara de mergulho (Mirtaheeri, 2010). Também existem equipamentos que não utilizam interface, ficando o sujeito com a cabeça livre durante todo o ensaio (AMTech, 2008). Embora essa última abordagem seja a mais confortável, ela é mais suscetível a falhas de detecção e estimação, pois o sujeito fica livre para realização de movimentos com a cabeça. O suporte de queixo é o mais distante da condição natural, pois impõe a imobilização parcial da cabeça. Nessa situação, em função do cansaço, podem ocorrer deslocamentos da cabeça em relação à câmera, o que compromete as estimativas do diâmetro pupilar. As adaptações em óculos e máscara de mergulho, além de garantir uma distância fixa entre o olho e a câmera ao longo do ensaio, permitem a criação de um ambiente

escotópico necessário para diversos protocolos. Nesses casos, a interface deve ser leve o suficiente para não provocar cansaço ao longo do ensaio. Embora tenham uma estrutura anatômica, existem relatos de desconforto em relação à máscara e de ansiedade pela permanência em ambiente escuro.

Não só projetar um equipamento confortável, mas também que seja operacional é fundamental para sua aplicação. Kirsch and Adusumilli (2009) mostraram a necessidade de modelos de pupilômetros mais práticos para avaliação de sonolência, que possam ser aplicados antes da realização da jornada de trabalho e durante a realização de tarefas cotidianas.

A.8. Expansibilidade do sistema

A plataforma de aquisição de imagens foi desenvolvida originalmente para uma câmera, entretanto inúmeras são as aplicações que demandam a inserção de mais câmeras. Aplicações como essas são encontradas na área de biomecânica para avaliação da correlação de membros opostos e em teste de desempenho de atletas em que é necessária uma grande extensão de cobertura (Pinheiro, 2008). Já na pupilometria para estudo de resposta consensual e na visão estéreo é necessário um par de câmeras para obtenção da mesma cena sobre pontos de vista distintos. As aplicações que demandam mais de uma câmera têm no volume de dados transferidos um dos seus principais limitadores. Por sua vez, o volume de dados é diretamente dependente da resolução temporal e espacial configurada para o sistema. Dessa forma, é necessário identificar por meio de ensaios as limitações do computador usado na gravação das informações. Vale ressaltar que a perda de quadros ainda pode ocorrer mesmo em configurações de alto desempenho, pois o sistema operacional utilizado na plataforma não dá suporte a tempo real.

APÊNDICE B - ENSAIOS E TESTES

A câmera Firefly MV apresenta taxas de aquisição de até 120 Hz, o que contempla as especificações dos ensaios propostos neste trabalho. Entretanto, é fundamental a garantia de uma taxa de amostragem determinística, uma vez que alguns algoritmos matemáticos aplicados no estudo da sonolência se baseiam nesta premissa. Não menos relevante é a sincronização provida pela câmera Firefly MV, que é fundamental para estudos que envolvam coletas pupilométricas com estimulação simultânea. Com o objetivo de avaliar o comportamento da câmera foi realizado um teste para tratar especificamente destas características.

Com relação às configurações de *hardware* (computador padrão PC) e sistema operacional (Windows nas versões XP e Vista), que dão suporte à plataforma desenvolvida, foram avaliadas três configurações distintas. Vale lembrar que estes testes servem apenas como referência para auxiliar futuros trabalhos de replicação da plataforma, uma vez que foram realizados em condições distintas de *hardware/SO*.

B.1. Taxa de amostragem

Muitos protocolos experimentais requerem sincronização precisa entre a aquisição da imagem do olho e a gravação do bio-sinal e/ou com os dispositivos de estimulação. Para identificar até que ponto a plataforma pode cumprir este requisito, foi avaliado o determinismo da captura de quadro. Para este teste (Figura B1), a câmera foi configurada para aquisição de imagens contínua (modo livre) a uma taxa de amostragem de 120 Hz e para gerar um sinal de *strobe*, com duração de 0,524 ms, a cada quadro montado. O sinal de *strobe* é um pulso gerado pela própria câmera que indica o início do processo de captura. A duração *strobe* é configurável entre 0 e 4095 vezes T_{clock} da câmera ($F=1,024$ MHz). O sinal gerado pelos pulsos de *strobe* foi exibido em um osciloscópio digital 3202A DSO (Agilent Technologies, Santa Clara, EUA) (Figura B1B - canal 2), juntamente com um sinal de pulso aperiódico de 1 ms (Figura B1A), produzido por um gerador de sinais para simular um sinal externo de *trigger*. Como representado na Figura B1B, os pulsos de *strobe* foram gerados de acordo com a especificação da câmera: eles ocorreram em um intervalo de tempo regular, uma largura correta (*jitter* temporais da ordem de décimo de μ S) e com uma saída de tensão de 3,3 V, mostrando que a geração de quadros é realizada de forma determinística.

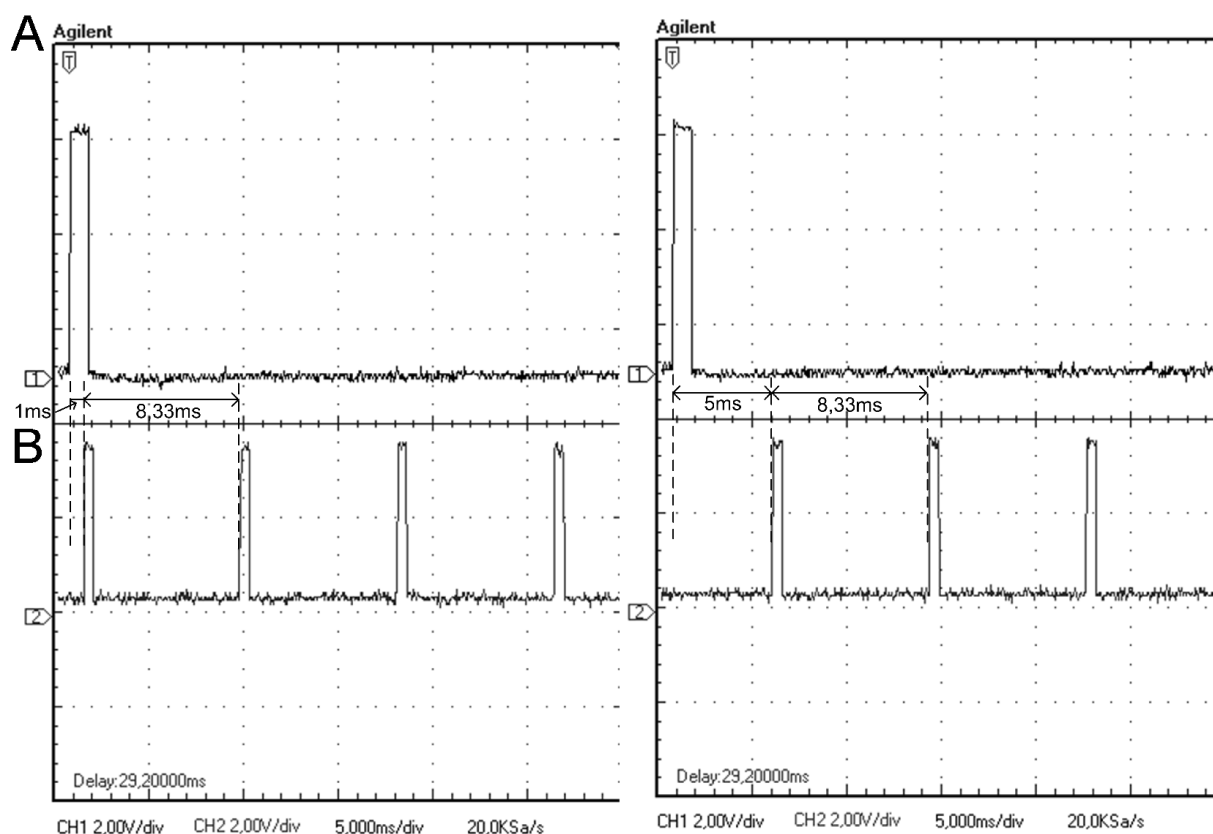


Figura B1 - Precisão temporal do sinal de *strobe* da câmera.

Medido com um osciloscópio digital durante dois instantes diferentes indicados nas colunas. (A) Sinal gerado por um gerador de sinal para simular um pulso de disparo. (B) Sinal de *strobe* gerado pela câmera. Para ambos os momentos de gravação, a duração entre os pulsos *strobe* foi aproximadamente 8,33 ms, com apenas dezenas de microssegundos de *jitter*. A falta de sincronização entre sinais mostrados em A e B exemplifica um problema inerente utilizando um pulso externo para disparar a câmera, que é a incerteza do sincronismo com a duração máxima de um quadro de vídeo. O osciloscópio digital (Agilent Technologies, modelo de DSO 3202A) tem uma largura de banda de 200 MHz, taxa de amostragem 1 Gs/s, com precisão de ± 100 ppm na escala horizontal e $\pm 3\%$ na escala vertical.

B.2. Sincronização

Considerando o teste proposto no item B.1, que possibilita à câmera realizar aquisição de imagens na sua taxa mais elevada, foi verificada qual deveria ser a largura mínima do pulso de *trigger* para garantir que o mesmo não fosse perdido pela câmera (simulado no canal 1 da Figura B1A). Vale ressaltar que neste caso o *trigger* é registrado em um canal de I/O da câmera, sendo identificado pelo software de captura de imagens no computador pessoal e disparando assim o processo de gravação do filme. No entanto, dependendo da largura do pulso de *trigger* e do seu deslocamento temporal em relação ao início do processo de montagem de quadro na câmera, a sinalização do *trigger* pode ser perdida. Resultados experimentais em que foram aplicados pulsos de *trigger* de diferentes larguras (de 5 a 10ms e passos de 1ms) mostraram que a largura mínima de 6 ms é necessária para evitar a perda do pulso de sincronismo.

B.3. Teste de limitações de hardware e do sistema operacional Windows para aquisição de vídeo confiável em tempo real

Como a plataforma foi desenvolvida no sistema operacional Windows, que não oferece suporte a tempo real, ele poderá perder o controle da CPU em função de um processo de maior prioridade, introduzindo falhas de captura no registro do ensaio (filme). Dessa forma, é importante mencionar que o número de aplicações simultâneas e seus respectivos processos em execução, no momento da captura e gravação, tende a aumentar a concorrência por recursos, o que degrada o desempenho do sistema. Recursos de *hardware* do PC, como RAM e velocidade do processador, também têm um impacto significativo sobre o desempenho da aquisição de imagens. Para avaliar até que ponto os fatores citados podem de fato deteriorar o desempenho dos protótipos desenvolvidos, foi realizada uma bateria de testes em PCs padrões utilizando módulos distintos de aquisição de imagens descritos na seção 3.5.1.3.

Para o teste do método de gravação baseado em evento de *trigger*, a experiência foi realizada em três diferentes plataformas para avaliar características distintas, especialmente em relação ao sistema operacional, à capacidade de memória e velocidade do processador (Tabela B1).

Tabela B1 - Configurações de computadores utilizados para avaliar o desempenho do sistema.

Configuração	Processador	RAM (Gbytes)	SO	Número de processos abertos
1	Intel Core 2 - 1.6GHz	2	Vista™ SP2	70
2	Pentium IV - 3.0 GHz	1	XP SP2	30
3	Intel Core 2 -1.8GHz	1	XP SP2	33

Com este propósito, foram testados sete intervalos de gravação diferentes (1, 10, 30, 50, 60, 70 e 80 segundos), cada um repetido dez vezes. A câmera foi configurada para uma resolução espacial de 320X240 e frequência de amostragem de 120 Hz, resultando em um total de 9.216 Mbytes/s de dados. A Figura B2A mostra os resultados obtidos para gravações com duração entre 1 e 50 segundos. Claramente, as maiores falhas consecutivas ocorreram para a configuração 1, um problema que está, provavelmente, relacionado ao sistema operacional e o número de processos em execução em segundo plano. Por outro lado, note-se que não há perda de quadros quando os testes são executados na configuração 3. Para tempos

de duração entre 50 e 80 segundos (Figura B2B), a configuração 2 apresentou uma nítida queda no desempenho em comparação com a configuração 1. Isto pode ser explicado pelo fato de que a gravação em períodos mais longos do que 60 segundos forçou a alocação de memória virtual no disco rígido. A diferença observada entre a configuração 1 e a configuração 3, que têm características de *hardware* bastante similares, mais uma vez reflete a carga de processamento do sistema operacional e a influência de processos simultâneos. O excelente desempenho da configuração 3 para um período de gravação de até 70 s deve atender a demanda da maioria dos protocolos experimentais baseados em gravações disparadas por eventos de *trigger*.

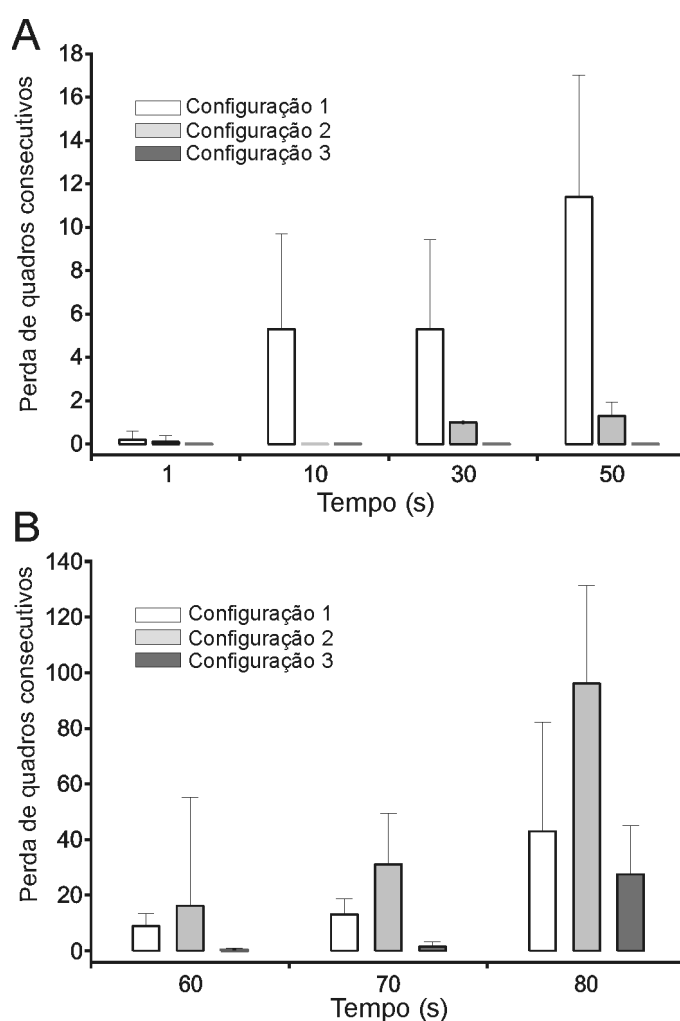


Figura B2 - Desempenho do sistema na aquisição de vídeo.

Modo de aquisição baseado em gravação de vídeo disparada por evento de *trigger* para diferentes configurações de computadores (Tabela B1). Histograma de contagem do número de quadros perdidos para ensaios de duração variando entre 1 e 50 s. (B) O mesmo que A, mas para durações entre 60 e 80 s.

Para a abordagem de gravação contínua de longo prazo, apenas uma configuração foi avaliada. Neste caso, a incapacidade para armazenar em memória grandes blocos (3G bytes) de dados inevitavelmente aumentou a probabilidade de perda de quadros. Para minimizar este

problema, optamos por um computador com Windows XP e com um processador Intel ® Core i5 750, bem como 2 Gb de RAM. Os dados foram coletados usando 26 repetições, todos realizados com uma frequência de amostragem de 120 Hz e com doze minutos, uma duração que é muitas vezes escolhida, por exemplo, em estudos de sonolência (McLaren *et al.*, 1992; Wilhelm *et al.*, 1998). Os resultados foram avaliados por meio do cálculo da percentagem média de quadros perdidos e/ou o número médio da maior perda consecutiva de quadros durante um processo de aquisição de dados. A Figura B3 mostra o maior número de quadros perdidos e a proporção de quadros perdidos para cada repetição. É evidente que, considerando o grande número de quadros adquiridos neste protocolo ($n = 87.600$), houve uma pequena perda de quadros (média de todas as repetições: 0,03%). Na maioria das vezes, a perda de quadro ocorre isoladamente, permitindo a sua interpolação usando pontos de dados adjacentes, especialmente para a frequência de 120 Hz. Ocorrências severas de perda de quadros foram raras. Nos testes, o pior caso foi observado durante o experimento 19 com uma falha na amostragem de 258 ms (31 quadros consecutivos * 8,33 ms), que pode resultar em mascaramento de informações importantes, tais como a ocorrência de um piscamento.

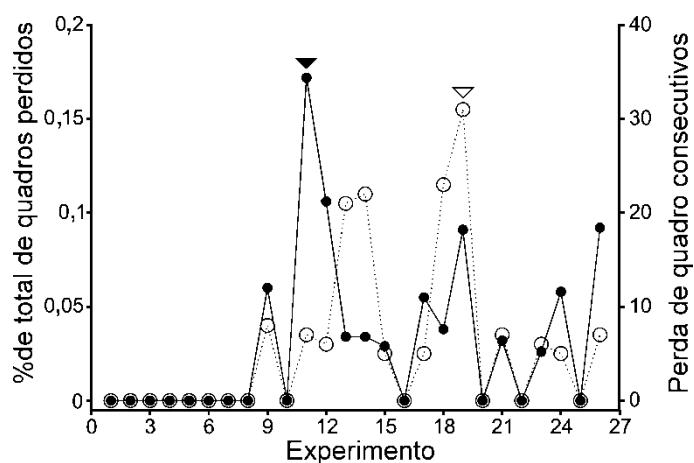


Figura B3 - Desempenho de temporização do sistema.

Modo de gravação contínua de longo prazo. Sessão de gravação consiste em 24 repetições de 12 min de aquisição de quadros de vídeo. Os pontos pretos ligados pela linha sólida descrevem o número total de perda de quadro identificado para cada repetição. Círculos abertos ligados por uma linha pontilhada mostram o maior número de quadros perdidos de forma consecutiva em cada repetição.

APÊNDICE C - PUPILÔMETROS E EYETRACKERS

A Tabela C1 apresenta alguns dispositivos que podem ser aplicados na pupilometria estática ou dinâmica.

Tabela C1 - Parâmetros dos dispositivos de coleta pupilométrica.

FPS	Resolução Medida (mm)	Estimulação	Captura	TR	Plataforma & SO	Conexão câmera	Fabricante & Referência
Pupilômetro							
1	0,1	N	M	S	Dedicado	Dedicado	Colvard – Oasis Medical http://oasismedical.com/colvard-pupillometer.html (Bradley <i>et al.</i> , 2005)
25	0,05	S	M	N	PC Windows XT	Firewire	F2D – AMTech http://www.amtech.de/en/products/f2d (Wilhelm <i>et al.</i> , 2009)
25	0,05	S	B	S	PC Windows XT/Vista/7	USB	P3000D – Procyon http://www.procyoninstruments.com (Bitsios <i>et al.</i> , 2006; Nikolaou <i>et al.</i> , 2008)
25	0,1	NE	M	N	PC - NE	NE	Protótipo (Deng <i>et al.</i> , 2010)
25	0,1	S	M	N	PC - NE	USB	Protótipo (Mirtaheri, 2010)
90	0,05	S	M	NE	PC - NE	Dedicado	Protótipo (Hachol <i>et al.</i> , 2007)
120	0,07	S	M	N	PC Windows XT	Firewire	Protótipo portátil descrito nesta tese.
Eyetracker							
60 120	NE	S	M/B	S	Dedicado	Dedicado	Tobii http://www.tobii.com/en/eye-tracking-research/global/
90 220 400	0,03	S	M/B	S	PC XP, Vista	USB	Arrington http://www.arringtonresearch.com/
250 500	NM	NM	M/B	S	Dedicado	Dedicado	Eye- Link http://www.sr-research.com/EL_II.html

Significado dos parâmetros dos dispositivos de coleta pupilométrica:

FPS: Número de quadros capturados por segundo. Se 1 é exames estático.

Resolução: É a menor variação do diâmetro que pode ser registrada pelo pupilômetro.

Estimulação: Informa de o dispositivo possui fonte de estimulação visual.

Captura: (M) Monocular (B) Binocular.

TR– Informa se o processamento é em tempo real.

Plataforma & SO – Informa o tipo de plataforma de hardware e o sistema operacional utilizado.

Conexão câmera – Tecnologia de comunicação de dados da câmera.

Códigos utilizados na tabela:

S: Sim, o parâmetro é aplicado.

N: Não, o parâmetro não foi aplicado.

NE: Não especificado pelo fabricante/autores.

NM: Não mencionado, ou seja, nada pode ser afirmado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DOS APÊNDICES

- AB TT. Tobii TX300 Eye Tracker User Manual. 2011: 48.
- AMTech PG. Pupillographic Sleepiness Test <http://www.amtech.de/en/products/psteco>. 2008.
- Arrington Research I. ViewPoint EyeTracker - Software User Guide. 2009: 248.
- ASL ASL. Eye Tracking System Instructions ASL Eye-Trac 6000. Bedford - Ma, 2005: 100.
- Association T. IIDC 1394-based Digital Camera Specification. 2004: 85.
- Bitsios P, Schiza SE, Giakoumaki SG, Savidou K, Alegakis AK, Siafakas N. Pupil miosis within 5 minutes in darkness is a valid and sensitive quantitative measure of alertness: application in daytime sleepiness associated with sleep apnea. *Sleep*, 2006; 29: 1482-1488.
- Borges GS. Técnica de medição tri-dimensional baseada no aprimoramento da formulação da técnica de Moiré de projeção e recursos de fotogrametria Engenharia Mecânica Universidade Federal de Minas Gerais: Belo Horizonte, 2011: 162.
- Bradley JC, Anderson JE, Xu KT, Brown SM. Comparison of Colvard pupillometer and infrared digital photography for measurement of the dark-adapted pupil diameter. *J Cataract Refract Surg*, 2005; 31: 2129-2132.
- Caffier PP, Erdmann U, Ullsperger P. Experimental evaluation of eye-blink parameters as a drowsiness measure. *Eur J Appl Physiol*, 2003; 89: 319-325.
- Choi KS, Lam EY, Wong KK. Automatic source camera identification using the intrinsic lens radial distortion. *Opt Express*, 2006; 14: 11551-11565.
- Cyganek B, Siebert JP. An Introduction to 3D Computer Vision Techniques and Algorithms. John Wiley & Sons, Ltd., 2009.
- Deng L, Xiong X, Zhou J, Gan P, Deng S. Fatigue detection based on infrared video pupillography. *Bioinformatics and Biomedical Engineering (iCBBE)*, 2010 4th International Conference 2010.
- Fountas KN, Kapsalaki EZ, Machinis TG, Boev AN, Robinson JS, Troup EC. Clinical implications of quantitative infrared pupillometry in neurosurgical patients. *Neurocrit Care*, 2006; 5: 55-60.
- Gonzalez RCE, Woods RE. *Digital Image Processing*. Addison-Wesley Publishing Company, 1992.
- Hachol A, Szczepanowska-Nowak W, Kasprzak H, Zawojcka I, Dudzinski A, Kinasz R, Wygledowska-Promienska D. Measurement of pupil reactivity using fast pupillometry. *Physiol Meas*, 2007; 28: 61-72.
- ICNIRP ICoN-IRP. Guidelines on limits of exposure to broad-band incoherent optical radiation. *Health Physics Societ*, 1997: 539-554.
- Intel C. Open Source Computer Vision Library, 2001.
- Kardon R, Anderson SC, Damarjian TG, Grace EM, Stone E, Kawasaki A. Chromatic pupil responses: preferential activation of the melanopsin-mediated versus outer photoreceptor-mediated pupil light reflex. *Ophthalmology*, 2009; 116: 1564-1573.
- Kirsch D, Adusumilli J. Multiple Sleep Latency Test and Maintenance of Wakefulness Test. *Sleep Medicine Clinics*, 2009; 4: 385-392.

- Kitajima N, Otsuka K, Ogawa Y, Shimizu S, Hayashi M, Ichimura A, Suzuki M. Auditory-pupillary responses in deaf subjects. *J Vestib Res*, 2010; 20: 373-380.
- Marshall AD, Martin RR, Hutber D. automatic inspection of mechanical parts using geometric models and laser range finder data. *Image and vision computing*, 1991: 385-405.
- Mchugh S. *Digital camera image noise*. 2007.
- McLaren JW, Erie JC, Brubaker RF. Computerized analysis of pupillograms in studies of alertness. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1992; 33: 671-676.
- Mirtaheri P. A novel low-cost design of a digital infrared pupillometer using a web camera. *The International Conference on Universal Technologies: Oslo, Norway*, 2010: 9.
- Nakayama M, Yamamoto K, Kobayashi F. Estimation of Sleepiness using Frequency Components of Pupillary Response. *Biomedical Circuits and Systems Conference*, 2008: 357 - 360.
- NI NIC. *NI Vision Concepts Manual: Austin*, 2008.
- Nikolaou A, Schiza SE, Giakoumaki SG, Roussos P, Siafakas N, Bitsios P. The 5-min pupillary alertness test is sensitive to modafinil: a placebo controlled study in patients with sleep apnea. *Psychopharmacology (Berl)*, 2008; 196: 167-175.
- Pinheiro AP. Desenvolvimento de um sistema de captura e análise de movimento baseado em técnicas de visão computacional. *Engenharia Elétrica. Federal de Uberlândia: Uberlândia*, 2008: 125.
- Point Grey Research I. Differences between USB cameras and FireWire cameras. 2009a.
- Point Grey Research I. *Firefly® MV Technical Reference Manual*. Richmond, 2009b: 53.
- Research A. 220 fps and 90 fps USB Eye Tracking System Specifications. 2011.
- Scuri AE. *Fundamentos da Imagem Digital*. Rio de Janeiro, 2002: 95.
- Subbarao M, Choi T. Accurate Recovery of three-dimensional shape from image focus. *IEEE Transactions on pattern analysis and machine intelligence*, 1995; 17: 266-274.
- Technology M. *Micron CMOS sensor MT9V022*. 2004: 2.
- Teikari P. *Automated Pupillometry*. Helsinki, 2007: 35.
- Warga M, Ludtke H, Wilhelm H, Wilhelm B. How do spontaneous pupillary oscillations in light relate to light intensity? *Vision Res*, 2009; 49: 295-300.
- Wilhelm BJ, Widmann A, Durst W, Heine C, Otto G. Objective and quantitative analysis of daytime sleepiness in physicians after night duties. *Int J Psychophysiol*, 2009; 72: 307-313.
- Wilhelm H, Ludtke H, Wilhelm B. Pupillographic sleepiness testing in hypersomniacs and normals. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 1998; 236: 725-729.
- Wilhelm H, Wilhelm B. Clinical applications of pupillography. *J Neuroophthalmol*, 2003; 23: 42-49.
- Yoshimoto H, Arita D, Taniguchi R-i. Real-Time Image Processing on IEEE1394-based PC Cluster. *15th International Parallel and Distributed Processing Symposium (IPDPS'01) Workshops*, 2001; 3.