

MODELAGEM E DESENVOLVIMENTO DE SOFTWARE PARA ANÁLISE E AVALIAÇÃO DE IMAGENS DE ESTRUTURAS DOS TECIDOS ANIMAIS E VEGETAIS

**Nayara D. GASPAR¹; José A. D. GARCIA²; Ricardo M. COSTA³; Raphael A. P. DIAS⁴;
Ramon G. T. M. SILVA⁵.**

RESUMO

A quantificação de estruturas que são caracterizadas por coloração específica em tecidos animais e vegetais é importante na pesquisa biológica e biomédica moderna. Na maioria das vezes, essas análises ainda são realizadas de maneira manual devido à pouca disponibilidade de softwares gratuitos e eficientes para tal finalidade. Neste sentido, o trabalho se propôs a modelar e desenvolver de um software para quantificar estruturas coradas em imagens de tecidos animais e vegetais de maneira precisa, rápida e eficiente.

INTRODUÇÃO

A análise de estruturas e células em tecidos animais e vegetais é comum em vários segmentos das ciências biológicas. Análises de colorações específicas desses elementos permitem a avaliação de aspectos funcionais ou morfológicos dos mesmos. No entanto, a maioria das quantificações e avaliação das estruturas específicas das imagens histológicas e citológicas realizadas no campo da pesquisa ainda é feita manualmente.

¹ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Muzambinho. Muzambinho/MG, email: nayaradenisefut@hotmail.com ;

² Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Machado. Machado /MG, email: jadiasgarcia@gmail.com ;

³ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas – Câmpus Muzambinho. Muzambinho /MG, email: ricardo.costa@muz.ifsuldeminas.edu.br ;

⁴ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Muzambinho. Muzambinho/MG, email: raphael.a.p.dias@gmail.com ;

⁵ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Muzambinho. Muzambinho/MG, email: ramon.silva@muz.ifsuldeminas.edu.br ;

A análise manual conta com uma matriz de 10x10, totalizando 100 pontos a serem analisados, sobreposta a uma imagem de tecido onde o observador quantifica as intersecções da grade que estão sobre a estrutura que se deseja quantificar. Essa contagem discreta e generalizada de pontos pode gerar resultados potencialmente subjetivos e pouco precisos.

Por conseguinte, a análise de materiais biológicos por meio de ferramentas computacionais permite a eliminação da subjetividade desse processo, além de permitir maior agilidade na sua execução, bem como maior confiabilidade. Além disso, programas são caros, quando disponíveis comercialmente, o que restringe o seu uso em diversas áreas.

Nesse sentido, com esse projeto objetiva-se modelar e desenvolver um software que realize a quantificação de estruturas coradas em imagens de tecidos animais e vegetais de maneira rápida, eficaz e confiável.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia – Sul de Minas Gerais - *Campus Muzambinho*, financiado pela FAPEMIG⁴. Esse projeto foi dividido em duas etapas principais: desenvolvimento e validação do sistema.

A primeira fase foi dedicada principalmente a modelagem e implementação do software. Para isso, foi usado a ferramenta Astah Community⁵ para modelar o sistema e criar os diagramas de caso de uso e classe. Na implementação, a linguagem de programação utilizada foi a linguagem Java, principalmente por ser uma linguagem multiplataforma para desenvolvimento desktop. Para auxiliar o desenvolvimento, foi utilizado o Ambiente Integrado de Desenvolvimento ou Integrated Development Environment (IDE) Eclipse Kepler.

O sistema realiza a análise gerando uma matriz com todos os pixels da imagem e suas devidas colorações, onde cada pixel refere-se a um ponto a ser analisado. Com essa matriz de pontos, realiza-se uma análise de cada ponto e é contabilizado aqueles que satisfizerem a Eq. (1):

⁴ FAPEMIG: Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de Minas Gerais.

⁵ Astah Community: Ferramenta de modelagem UML que engloba todos os diagramas desta.

$$(H_s - P) < H_p < (H_s + P), (S_s - P) < S_p < (S_s + P), (B_s - P) < B_p < (B_s + P) \quad \text{Eq. (1)}$$

Onde:

H, S, B e P: representam respectivamente a tonalidade, saturação, brilho e precisão da cor a ser buscada (s) e da cor do pixel corrente (p).

Na segunda etapa, foram analisadas cerca de 120 imagens de tecidos renais, cardíacos e arteriais pelos métodos digital e manual. O arranjo experimental de captura das imagens é descrito por Garcia, (2011). Com os resultados das análises traçamos um comparativo entre os métodos com a geração da correlação e do fator estatístico do sistema com o auxílio do software estatístico R⁶.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente, foram levantadas necessidades do sistema, como demonstrado no diagrama da Figura 1:

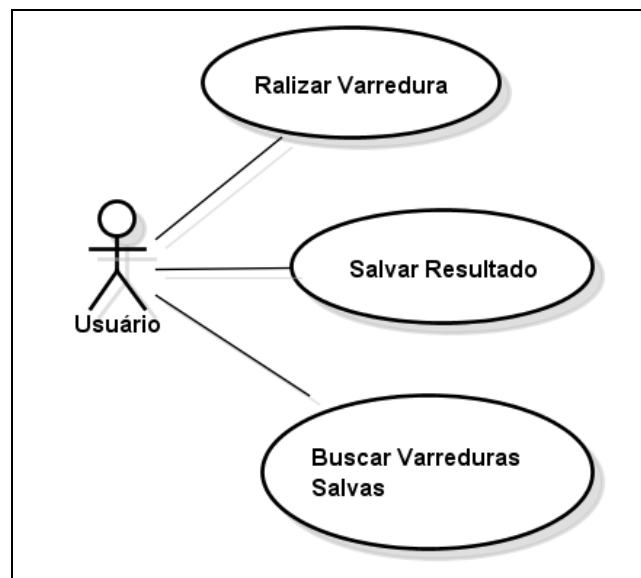


Figura 1: Diagrama de Caso de Uso.
Fonte: Dados da pesquisa (2013)

Na implementação, visando um software com boa usabilidade e que atenda os requisitos mostrados no diagrama de caso de uso, foi construída uma interface como a mostrada na Figura 2:

⁶ R: Linguagem e ambiente para estatística computacional.

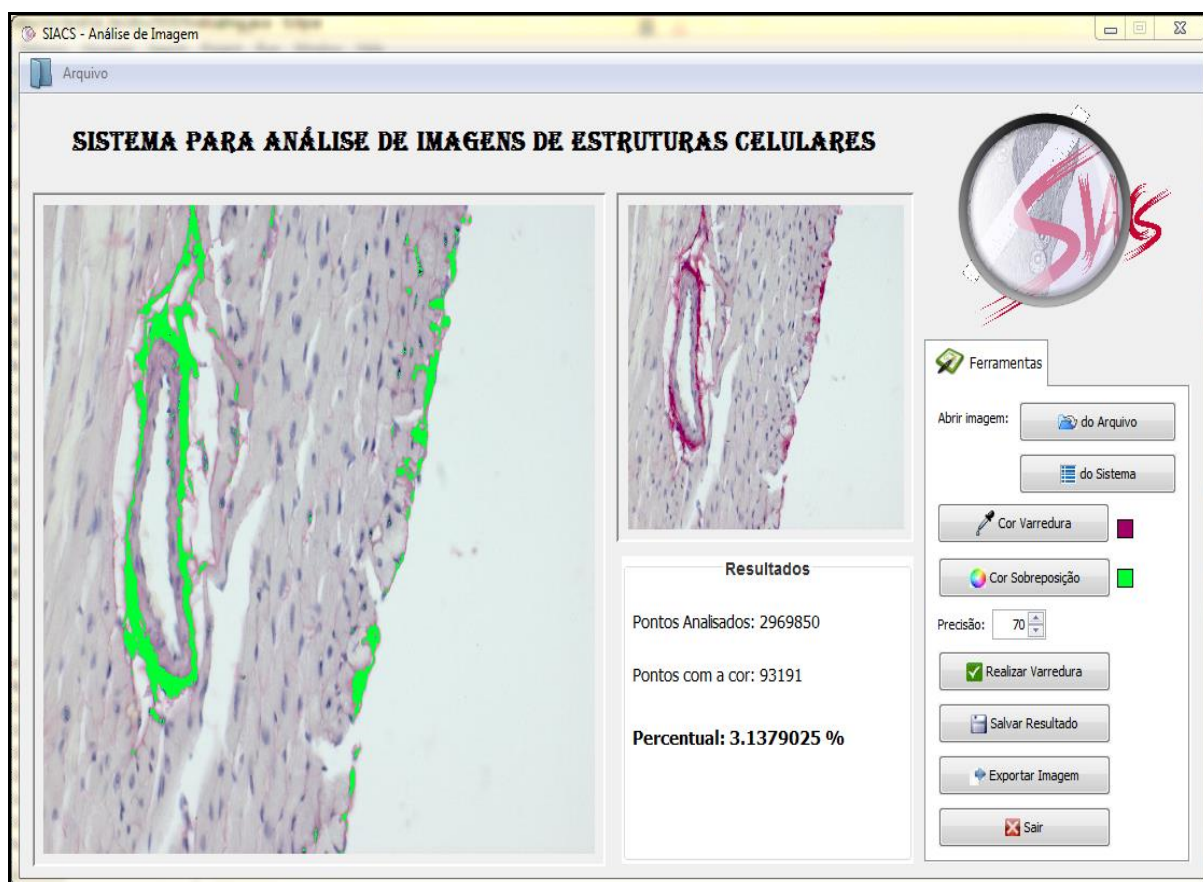


Figura 2: Interface da tela principal com a análise de um tecido arterial
Fonte: Dados da pesquisa (2013)

Essa interface foi implementada utilizando o modelo de cores RGB⁷ para a plotagem das cores, restringindo o HSB⁸ apenas para a análise da imagem, uma vez que este modelo pode variar a cor mostrada de dispositivo para dispositivo. Assim, fica visível a cor selecionada para analisar e quanto da estrutura foi detectada, que é sobreposta por uma outra cor, podendo o sistema ser ajustado para detectar mais ou menos pontos de acordo com a variação da cor de interesse. Ademais, pode-se ver também, o total de pontos que foram analisados pelo sistema, que corresponde ao tamanho da imagem. Desta forma, quanto maior a resolução da imagem, mais pontos serão analisados e maior será a exatidão do resultado. Outra informação que é mostrada pelo software é a quantidade de pontos que produzidos, que nada mais é que a da estrutura procurada. A partir dessas informações, calcula-se o percentual da estrutura varrida.

⁷ RGB: Modelo de cores formado pelas cores primárias vermelho (red), verde (green) e azul (blue).

⁸ HSB: Modelo de cor que define o espaço da cor utilizando matiz ou tonalidade (hue), saturação (saturation) e brilho (brightness).

Já na validação do software foi utilizado a análise de regressão para comparar os resultados calculados pelo sistema desenvolvido com os resultados obtidos pela análise manual das imagens de tecidos.

Ao nível de significância de 5% verificou-se que o intercepto não diferiu de 0 (p -valor=0,221) e o coeficiente angular não diferiu de 1 (p -valor=0,075), ou seja, o modelo ajustado não diferiu da modelo identidade $Y = X$, sendo X o valor manual e Y o valor digital. Consequentemente, ao nível de significância de 0,05 conclui-se que as porcentagens de áreas previamente quantificadas não diferiu das porcentagens obtidas pelo software, gerando um $R^2 \sim 99\%$.

CONCLUSÕES

Á partir da correlação dos resultados obtidos das análises manual e digital percebeu-se que o software gera resultados precisos além de proporcionar maior agilidade e praticidade na avaliação de imagens de tecidos ou estruturas celulares. Sendo assim, o seu uso auxilia na quantificação de estruturas em imagens microscópicas, bem como na execução de pesquisas relacionadas a ela.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bolender RP, Hyde DM, Dehoff RT. Lung morphometry: a new generation of tools and experiments for organ, tissue, cell, and molecular biology. **Am J Physiol** 265:L521–548, 1993.

Conci A, Azevedo E; **Computação Gráfica**. Teoria e Prática. Vol. 1. Rio de Janeiro, Campus-Elsevier, 2003.

Filgueiras LVL, Tori R, Massola Ama, Arakaki R. **Fundamentos de computação gráfica**. Rio de Janeiro, São Paulo, LTC — Livros Técnicos e Científicos Editora, 1987.

Garcia JAD, Calderon HL, Carvalho AJP, Oliveira, ICR *et al.* Efeito da Lecitina de Soja sobre os Lipídeos e Proteína C reativa e na prevenção da Hipertrofia Ventricular Esquerda de Camundongos Hiperlipidêmicos. **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**. 2011; 32(3):389-393.

Gonzalez RC, Woods RE. **Processamento de imagens digitais**. São Paulo, Edgard Blücher Ltda., 2000.

Junqueira LC, Bignolas G, Brentani RR, Histochem J. **Picrosirius red staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections**. Histochem J. 1979; 11(4):447-55.

Marszalek A, Daa T, Kashima K, Nakayama I, Yokoyama S. Quantitative immunohistochemical analysis of the expression of CD31 during lung development in the rat. **Cells Tissues Organs**, 2001; 169:49-54.

Ong SH, Jin XC, Jayasooriah, Sinniah R. **Image analysis of tissue sections**. Comput Biol Med 26:269-279, 1996.

Sorensen FB. **Biology of the disease**. Quantitative analysis of nuclear size for objective nuclear grading: a review with emphasis on new, unbiased stereological methods, Lab. Invest. 66: 4-23, 1992.