

Modelagem e Desenvolvimento de Software para Análise de Imagens de Estruturas de Tecidos Animais e Vegetais

NAYARA DENISE GASPAR

Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia – Sul Minas Gerais – Campus Muzambinho – IF Muzambinho – Minas Gerais – Brasil
nayaradenisefut@hotmail.com

RICARDO MARQUES COSTA

Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia – Sul Minas Gerais – Campus Muzambinho – IF Muzambinho – Minas Gerais – Brasil
ricardo.costa@muz.ifsuldeminas.edu.br

JOSÉ ANTÔNIO DIAS GARCIA

Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia – Sul Minas Gerais – Campus Machado – IF Machado – Minas Gerais – Brasil
jadiasgarcia@gmail.com

RAMON TEODORO MARQUES SILVA

Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia – Sul Minas Gerais – Campus Muzambinho – IF Muzambinho – Minas Gerais – Brasil
ramon.silva@muz.ifsuldeminas.edu.br

RAPHAEL ANTÔNIO PRADO DIAS

Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia – Sul Minas Gerais – Campus Muzambinho – IF Muzambinho – Minas Gerais – Brasil
raphael.dias@muz.ifsuldeminas.edu.br

Resumo - O presente trabalho visa a modelagem e o desenvolvimento de um software que quantifique estruturas em tecidos animais ou vegetais que são caracterizados por uma cor específica, ou seja, que mostre o percentual de uma estrutura corada em imagens digitais de tecidos.

Palavras-chave: Análise de Tecidos, Software, Análise de Imagens.

Abstract - This study aims to the modeling and the development of a software that quantifies tissue structures of animals or vegetables that are characterized by a specific color, alias, a software that show the percentage of a colored structure in a digital image of tissue.

Keywords: Tissue Analysis, Software, Image Analysis.

1. Introdução

A análise de tecidos por coloração tem grande importância em diversos campos da pesquisa da área biológica. Atualmente, na maioria dos casos, ela ainda é realizada manualmente, o que demanda bastante tempo, além de gerar resultados com baixa precisão e subjetivos, uma vez que varia de observador para observador.

A utilização de sistemas computacionais para realizar essas análises permite a eliminação dessa subjetividade e garante maior precisão e robustez no processo de análise. Além disso, confere maior agilidade e menor custo nos processos que envolvem sua realização.

Nos dias de hoje, os sistemas computacionais disponíveis para realizar estas análises são caracterizados muitas vezes pela pouca usabilidade e alto custo – a maioria são proprietários, o que impede a divulgação de uma ferramenta que pode ser acessada por outros pesquisadores.

Nesse sentido, o trabalho se propôs a modelar e desenvolver um software que permita a análise de imagens de tecidos animais e vegetais, sendo capaz de medir a área de tecidos corados e estruturas celulares, de maneira rápida, fácil e de maneira robusta.

2. Referencial Teórico

A análise funcional e estrutural de tecidos e células é comum em vários campos da pesquisa biológica e biomédica moderna, principalmente ligada a microscopia óptica, que tem se tornado essencial nessa área. A associação de cores nos permite diferenciar elementos celulares dos elementos intersticiais em diversas análises, como por exemplo, para análise imunoistoquímica e sondas de oligonucleotídeos. Análises por coloração podem avaliar também aspectos funcionais que incluem alterações na expressão gênica e localização de proteínas.

A quantificação de estruturas histológicas e citológicas são limitadas por gerarem resultados potencialmente subjetivos e exigirem muito tempo do observador, o que limita a quantidade de material que pode ser analisado, prejudicando a representatividade das amostras analisadas. Por isso, o mais adequado é análise computacional para realizar a quantificação de estruturas por coloração.

Entretanto, pela baixa disponibilidade de ferramentas computacionais gratuitas amplamente disponíveis para esses fins estas análises são realizadas, na maioria das vezes, pelo método manual que demanda mais tempo e dinheiro.

A análise manual de tecidos é feita com uma grade de 100 pontos (matriz de 10x10) sobreposta a imagem onde conta-se as intersecções que estão sobre a estrutura de interesse, ou seja, as intersecções que estão sobre uma cor específica na imagem.

O método manual vem sendo substituído por programas de análise de imagens que são bastante eficientes, no entanto, muito caros e limitados quando disponíveis, o que restringe o uso desses sistemas. Assim, o trabalho visa o desenvolvimento de um software que faça a contagem exata de tecidos corados e estruturas celulares de maneira rápida, amigável e eficiente, ao invés da contagem discreta dos quadros.

3. Metodologia

O projeto foi dividido em duas etapas principais. A primeira destinada à modelagem e à implementação do sistema e a segunda etapa destinada à realização dos testes e à validação do mesmo.

Na primeira fase, para a modelagem do software foi utilizada a ferramenta *Astah Community*, que é uma ferramenta voltada à construção de diagramas UML¹. Nessa etapa da modelagem, foram confeccionados os diagramas de caso de uso, para o levantamento de requisitos, e o de classes, para apoio da implementação.

Para modelar e construir o banco de dados foi utilizado o *software Workbench*, versão 6.1, que é uma ferramenta para construção de DER² e uma interface de SGBD³ MySQL.

Ainda na primeira fase do projeto, a implementação foi feita usando a Linguagem Java, plataforma Standard Edition (SE), com Ambiente Integrado de Desenvolvimento ou IDE (Integrated Development Environment), Eclipse Kepler, seguindo o padrão de projeto em camadas MVC⁴, o qual facilita a interpretação e manutenção do programa.

Para a realização das avaliações, foi adotada uma matriz do tamanho da imagem em pixels (unidade mínima da imagem), onde cada quadro da grade é um pixel, o que aumenta significativamente o campo de análise.

Para analisar cada pixel, foi usado o modelo de cores HSB, pois ele separa componentes matiz (Hue), que representa a tonalidade da cor e saturação (Saturation), que descreve a pureza ou vivacidade e o brilho (Brightness), que determina a intensidade ou a quantidade de branco da cor.

No processo de análise dos pontos, tem-se a cor de interesse selecionada na imagem pelo usuário e uma variável de precisão P, que ajusta a variação de cores mais “claras” ou mais “escuras” que serão aceitas na quantificação de acordo com a Eq.(1):

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

onde as variáveis com _s representam a cor de interesse no tecido (selecionada na imagem) e as variáveis com _p, a cor do pixel analisado. As variáveis H, S e B representam respectivamente os componentes matiz, saturação e brilho de cada cor.

Após a contagem dos pontos que pertencem a estrutura selecionada, foi feita uma proporção da quantidade total de pixels ou de quadros com a quantidade contabilizada na análise, retornando o percentual ao usuário.

Ao término da implementação, iniciou-se a segunda etapa, voltada aos testes e validação do software. Os testes foram realizados manual e digitalmente em 110 imagens de tecidos cardíaco, arterial e renal processados

¹ UML – Unified Modeling Language. A UML é uma linguagem visual para especificação, construção e documentação de artefatos que dá suporte à implementação de sistemas.

² DER – Diagrama de Entidade-Relacionamento. Esse diagrama exibe um esquema que representa uma determinada situação real e podendo ser implementada (Banco de Dados) independente de Hardware ou Software.

³ SGBD – Sistema Gerenciador de Banco de Dados. Software que incorpora as funções de definição, recuperação e alteração de dados em um banco de dados.

⁴ MVC – Model View Controller. É um padrão de projetos, que prega a divisão do mesmo em camadas de visão (interfaces gráficas), controle (validação) e modelo (funcionalidades).

histologicamente. Os resultados dessas análises foram usados na determinação da confiabilidade a partir da comparação dos mesmos. Para isso, utilizou-se o software estatístico R⁵ para gerar a correlação dos resultados manual e digital e o fator estatístico R², que caracteriza a eficiência do sistema.

4. Resultados e Discussão

Inicialmente, foi feito o levantamento de requisitos do sistema. Os requisitos do sistema são basicamente relacionados à realização da análise e ações para acessá-las posteriormente, como ilustrado no diagrama de caso de uso da Figura 1:

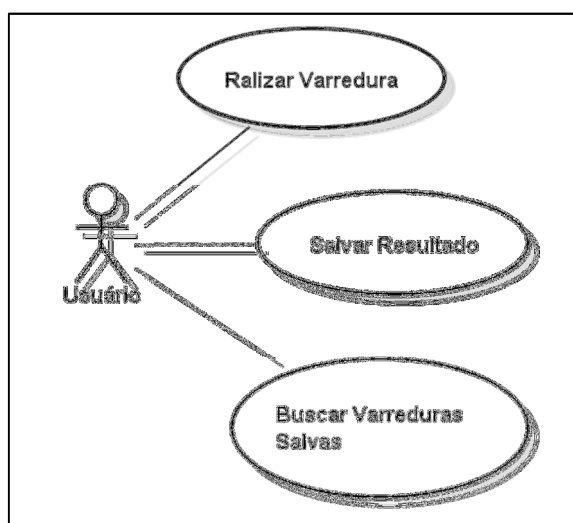


Figura 1: Diagrama de Caso de Uso
Fonte: Dados da Pesquisa

Para permitir ações de busca em análises já realizadas, faz-se necessário o uso de um banco de dados que armazene as imagens analisadas e seus resultados, bem como informações como descrição e classificação da imagem. Com isso, o sistema utiliza um banco de dados disposto conforme o diagrama ER da Figura 2:

⁵ R: Linguagem e ambiente para estatística computacional.

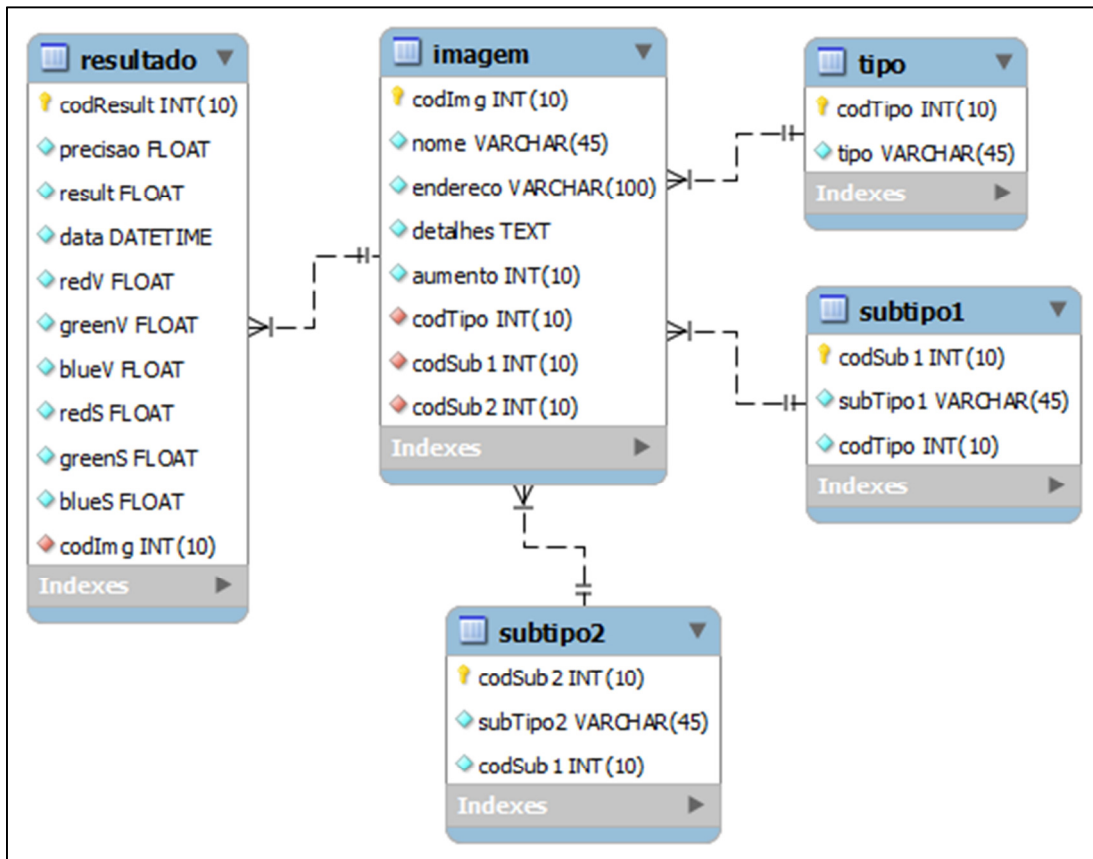


Figura 2: Diagrama ER
Fonte: Dados da pesquisa

Tendo em vista os requisitos propostos, a implementação do sistema segue o diagrama de classes na figura seguinte:

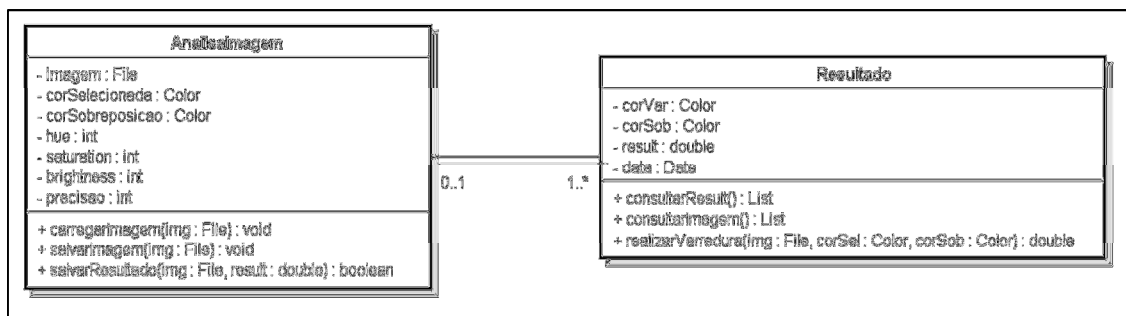


Figura 3: Diagrama de classes
Fonte: Dados da Pesquisa

Para avaliar a imagem, o sistema obtém a cor de cada pixel e o converte para o modelo de cores HSB, pois esse modelo separa a cor nos componentes matiz, saturação e brilho. A separação desses componentes permite a maior proximidade com o sistema de visão humano, ou seja, possibilita a percepção de cores mais “claras” ou mais “escuras”. No entanto, nesse modelo, a visualização da cor pode variar de dispositivo pra dispositivo. Por esse motivo, na plotagem de

cores, usamos o modelo de cores primárias RGB, restringindo o HSB à somente a quantificação dos pontos.

Na a implementação, visando um software com boa usabilidade, foi construída uma interface como mostrada na Figura 4:



Figura 4: Interface da tela principal com a análise de um tecido arterial

Fonte: Dados da Pesquisa

Na interface mostrada na Figura 4, fica visível a cor selecionada para analisar e quanto da estrutura foi detectada, podendo ajustar o sistema para detectar mais ou menos pontos. Pode-se ver também, o total de pontos que foram analisados pelo sistema, que corresponde ao tamanho da imagem, conseqüentemente, quanto maior a resolução da imagem, mais pontos serão analisados e maior será a exatidão do resultado.

A análise de regressão para comparar os resultados obtidos das análises feitas manual e digitalmente foram realizadas tomando-se y como o valor digital e x como o valor real. As pressuposições necessárias para análise de regressão foram verificadas e satisfeitas. Dessa forma, foi obtido o modelo matemático da Eq. 2:

$$y = 0,416 + 0,991x \quad \text{Eq. (2)}$$

Esse modelo foi obtido com o fator estatístico $R^2 = 0,9993$.

Por conseguinte, ao nível de significância de 5%, verificou-se que o intercepto não diferiu de 0 e o coeficiente angular não diferiu de 1, ou seja x não diferiu de y , conseqüentemente, ao nível de significância de 0,05, conclui-se que os resultados das análises manual e digital não diferiram, como ilustrado no gráfico da Figura 5.

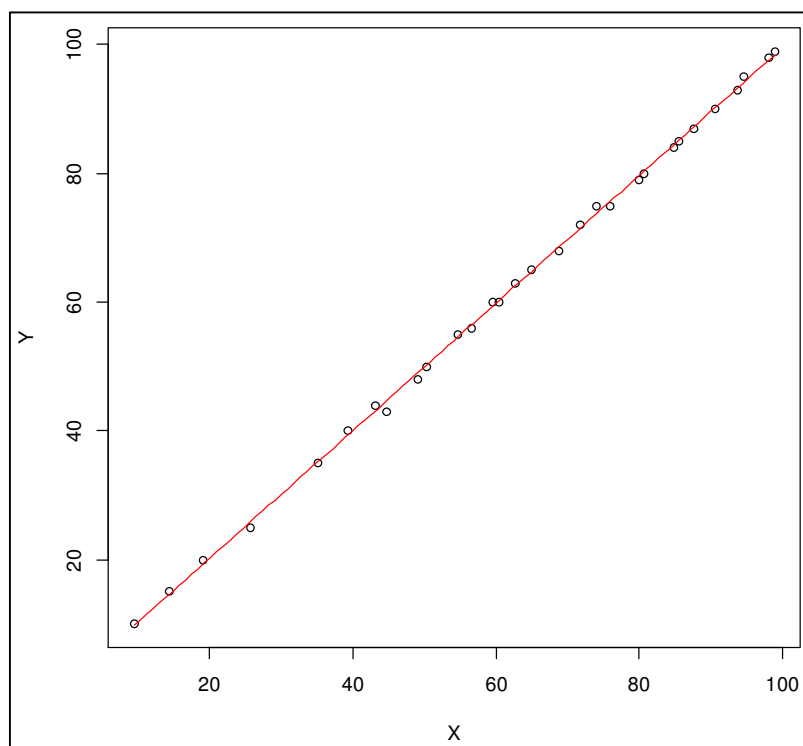


Figura 5: Gráfico de Regressão Linear.
Fonte: Dados da Pesquisa.

De acordo com o gráfico da Figura 5, é possível perceber que os resultados das análises do sistema foram muito próximos aos resultados das análises manuais, ou seja, o software obteve resultados com alta precisão, com diferenças irrelevantes estatisticamente.

5. Considerações finais

Atendendo o objetivo proposto que era modelar e desenvolver um software que permita a análise de imagens de tecidos animais e vegetais, sendo capaz de medir a área de tecidos corados e estruturas celulares, de maneira rápida, fácil e de maneira robusta foi atingido com sucesso. De maneira específica, foi possível desenvolver uma *interface* balizada nas principais regras de usabilidade, desenvolver um *software* capaz realizar análises de tecidos de maneira rápida, fácil e eficiente comprovado por um R^2 de 99,93%.

O software desenvolvido obteve bons resultados, não apresentando variação significativa estatisticamente. Desse modo, pode-se concluir que as avaliações realizadas digitalmente possuem alta confiabilidade e podem ser utilizadas em substituição ao método manual.

Referências

CONCI, Aura; AZEVEDO, Eduardo; Computação Gráfica: Teoria e Prática. Vol. 1. Rio de Janeiro: Campus-Elsevier, 2003.

CONCI, Aura; AZEVEDO, Eduardo; LETA, Fabiana R.; Computação Gráfica: Teoria e Prática. Vol. 2. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.

DEITEL, Harvey M. Java: Como programar. 8ª Ed. São Paulo: Prentice Hall Brasil, 2005.

GONZALEZ, Rafael C.; WOODS, Richard E. Processamento de imagens digitais. São Paulo: Edgard Blücher Ltda., 2000.

MANNHEIMER, Walter A. Microscopia dos Materiais. Rio de Janeiro: E-paper, 2002. 221 p.

RANGAYYAN, Rangaraj M.; KAMENETSKY, Ilya; BENEDIKTSSON, Hallgrimur. Segmentation and analysis of the glomerular basement membrane in renal biopsy samples using active contours: A pilot study. Rockville Pike: Journal of Digital Imaging, 2010.

ZHANG, Kang; AMMERAAL, Leen. Computação gráfica para programadores Java. 2ª Ed. São Paulo: LTC, 2008.

INSTITUTE FOR STATISTICS AND MATHEMATICS OF WU (WIRTSCHAFTSUNIVERSITÄT WIEN). The R project for Statistical Computing. Albacete, 2013. Disponível em: < <http://www.r-project.org/>>. Acessado em: 10 jun. 2014.