

# DESENVOLVIMENTO DE ALGORITMO PARA MINIZAR INFLUÊNCIAS DE VARIAÇÕES NA ILUMINAÇÃO EM IMAGENS DE REPAÇÃO TECIDUAL

**Guilherme Victor Campanelli Reinprecht<sup>1</sup>, Wolley Willians Silva<sup>2</sup>, Márcia A. S. Bissaco<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Estudante do Curso de; e-mail: [saga393@hotmail.com](mailto:saga393@hotmail.com);

<sup>2</sup> Professor da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: [wolley@umc.br](mailto:wolley@umc.br);

<sup>3</sup> Professora da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: [marciab@umc.br](mailto:marciab@umc.br);

**Área de Conhecimento:** Engenharia Biomédica

**Palavras-chave:** imagens;reparo de colágeno;

## INTRODUÇÃO

As fibras de colágeno desempenham uma função importante na repavimentação tecidual, pois são responsáveis pela manutenção da integridade do tecido uma vez que consistem no principal componente que confere força de tensão ao tecido (HESS, 2002). Fibras de colágeno dos tipos I e III encontram-se entrelaçadas na derme reticular, sendo que em um tecido saudável observa-se uma proporção de aproximadamente 90% e 10%, respectivamente, enquanto que em um tecido lesionado ocorrem variações nesta proporção nas diferentes fases da cicatrização (HESS, 2002; MANDELBAUM *et al*, 2003). Como a resistência mecânica do tecido cicatricial é estreitamente relacionada à presença das fibras de colágeno dos tipos I e III na derme reticular, quantificar a densidade delas nas fases da cicatrização ajuda a estabelecer uma escala numérica e reproduzível e realizar uma análise do efeito do tratamento usado para promover a reparação tecidual (SILVA *et al*; 2008; SILVA *et al*, 2010). Softwares de processamento de imagens podem ser utilizados para realizar a quantificação da densidade destas fibras de colágeno em imagens digitais. Porém, a eficiência deles depende da qualidade da imagem captada, cujo brilho e contraste variam conforme ocorrem alterações nas condições de iluminação da amostra, ou seja, variações no ajuste dos diafragmas de entrada e saída de luz do microscópio óptico de luz polarizada (SILVA *et al*, 2010). Imagens adquiridas com diferentes condições de iluminação dificultam a aplicação de um processamento de imagens automático, pois a intensidade da fonte de luz e sua distribuição influenciam a tonalidade dos pixels, o que é relevante quando se pretende identificar e quantificar fibras de colágeno em uma imagem levando em conta suas cores representativas. (CHENG *et al*, 2001; SILVA *et al*, 2010).

## OBJETIVO

O objetivo deste trabalho é desenvolver um algoritmo para minimizar a influência das condições de iluminação sobre a identificação e a quantificação automática de fibras de colágeno dos tipos I e III em imagens de reparação tecidual.

## METODOLOGIA

O algoritmo desenvolvido neste estudo foi codificado com um ambiente visual de desenvolvimento rápido de aplicações, que é compatível com a plataforma Windows® e que possibilita o desenvolvimento de interfaces amigáveis de interação com o usuário bem como permite manipular os componentes dos pixels das imagens considerando modelos de cor RGB, HSI e HSV. Para verificar se este algoritmo minimiza a influência das condições de iluminação, foram processadas imagens, de uma única amostra de tecido saudável adquirida com variações nas condições de iluminação, antes e após a execução dele. Em seguida, os valores resultantes foram comparados.

Para quantificar as fibras de colágeno antes e após o uso deste algoritmo, foram empregados os softwares Image Pro-Plus® (método Count/Size) e CFC\_Image v.2.0, sendo que o primeiro é um software comercial empregado por pesquisadores da área biomédica para quantificar de forma semi-automática detalhes de interesse em uma imagem como, por exemplo, as tonalidades vermelhas e verdes referentes às fibras de colágenos dos tipos I e III, respectivamente (PAIVA, 2006; CRUZ, 2007; REIS, 2008; VALLE *et al*, 2008). CFC\_Image v.2.0, por outro lado, foi desenvolvido por pesquisadores da Universidade de Mogi das Cruzes para processar de forma automática um conjunto de imagens em função de um único limiar obtido de numa imagem referência usando o modelo de cores HSV (SILVA *et al*, 2008; SILVA *et al*, 2010).

As imagens digitais usadas neste estudo foram adquiridas por Silva *et al* (2010) de uma amostra de pele de rato sem lesão corada com Picrosírius Red com o auxílio de um microscópio óptico de luz polarizada (marca Leica® e modelo DMLP) com uma câmera de vídeo acoplada (marca LG e modelo GC-415N-MD), variando a abertura dos diafragmas de entrada (2,5, 4 a 12) e de saída de luz (1 a 6) localizados após o polarizador.

Uma destas imagens foi usada como referência (MR) para a correção do contraste e do brilho das imagens adquiridas com variação das condições de iluminação e também como parâmetro de comparação dos resultados da quantificação das fibras realizada antes e após a realização da etapa de pré-processamento. Esta imagem foi selecionada por Silva *et al* (2010) com o auxílio de um especialista e a quantificação das fibras de colágeno se aproximou do referido na literatura, que é 90% de fibras de colágeno do tipo I (tonalidade vermelha) e 10% do tipo III (tonalidade verde).

O algoritmo desenvolvido para pré-processamento, ou seja, para realizar ajuste de brilho e de contraste nas imagens, baseia-se em técnicas do domínio espacial que operam diretamente sobre os pixels (ponto a ponto) da imagem. Aplica aos componentes R, G e B um fator de correção como realizado por Codes (2003) e Silva *et al* (2010) e expresso na equação seguinte:

$$R_c = K_r \cdot R \quad (1)$$

sendo  $R_c$  e  $K_r$  o valor corrigido e o fator de correção, respectivamente, para o componente R da imagem original.

Os valores dos fatores de correção dos componentes R, G e B foram obtidos neste estudo usando uma função baseada em estatística (variância), que é menos sensível ao ruído e que considera as variações nos valores dos componentes R, G e B dos pixels da imagem original bem como uma variância normalizada para compensar diferentes médias de diferentes imagens, conforme equação usada por Sun *et al* (2004) para níveis de cinza, como exemplificado na expressão:

$$K_r = 1/(H.W.\mu) \cdot \sum \sum (i(x,y) - \mu_r)^2 \quad (2)$$

Sendo que  $i(x,y)$  corresponde a intensidade do pixel, H e W são respectivamente altura e largura da imagem original,  $\mu_r$  é o valor médio referente ao componente R da imagem original, enquanto que o valor de  $\mu$  é considerado neste estudo como a média da imagem referência.

Por último, o algoritmo incrementa ou decrementa um fator de brilho ao valor corrigido de cada um dos componentes R, G e B. Este fator consiste em um terço da diferença de brilho entre a média das intensidades dos pixels da imagem original (MO) em relação à média da imagem referência (MR). Se  $MO > MR$ , realiza o incremento do fator de brilho, caso contrário, se  $MO < MR$ , realiza o decremento.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados mostraram que a eficiência de ambos os softwares ficou comprometida devido ao efeito das variações das condições de iluminação da amostra sobre a qualidade da imagem original captada.

O ajuste de brilho e contraste realizado mostrou-se mais eficiente para o software Image-Pro Plus. Por exemplo, em imagens adquiridas na escala 8, 10 e 11 do diafragma de entrada de luz, ele quantificou nas imagens originais em torno de 85% e 15% de fibras dos tipos I e III, respectivamente, e após o ajuste quantificou a proporção de 90% e 10%, respectivamente (Figura 1).

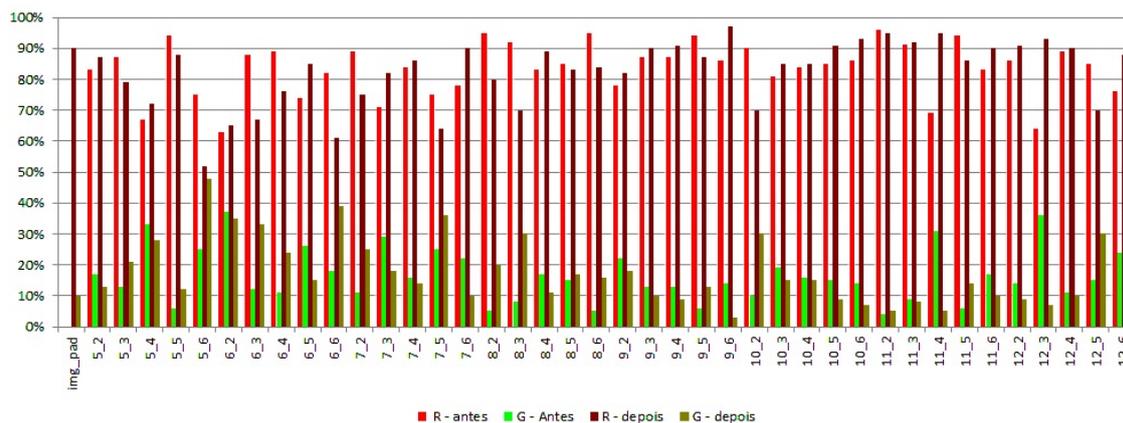


Figura 1 – Proporções dos componentes R e G calculados com o Image-Pro Plus

## CONCLUSÃO

Os resultados mostraram que uma etapa de pré-processamento é importante para minimizar a influência de variações nas condições de iluminação da amostra durante o processo de aquisição da imagem digital. O algoritmo desenvolvido pode ser usado nesta etapa, pois recuperou algumas imagens em que as cores não podiam ser detectadas visualmente. Realçou as tonalidades dos pixels, melhorando a visualização e a diferenciação das fibras de colágeno dos tipos I e III. A correção de brilho e de contraste obtida com este algoritmo foi mais relevante para o software Image-Pro Plus, onde é realizado um processamento semi-automático em que o usuário informa alguns pixels que diferenciam as tonalidades vermelha e verde referentes às fibras de colágeno dos tipos I e III, respectivamente.

## REFERÊNCIAS

CHENG, H.D., JIANG, H.X., SUN, Y., WANG, J. Color image segmentation: advances and prospects. Department of Computer Science, Utah State University, Logan, UT 84322-4205, USA, September 2001

CODES, V. M. Metodologia para correção de cores de imagens digitais de íris humanas, 2003. Dissertação de Mestrado (Metrologia Científica e Industrial) – Departamento de Engenharia Mecânica da Universidade Federal de Santa Catarina.

CRUZ, A. N. N. Estimulação elétrica neuromuscular por microcorrente, na cicatrização cutânea pós-operatória. Análise análise do colágeno em ratos, 2007. Dissertação de Mestrado (Engenharia Biomédica) – Universidade de Mogi das Cruzes; UMC, Brasil.

HESS, Cathy Thomas. Tratamento de feridas e úlceras. 4. ed. Rio de Janeiro: Reichmann & Affonso, 2002. 226 p. ISBN 8587148270

MANDELBAUM, S.H; SANTIS, E.P; MANDELBAUM, M.H.S; Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – Parte I. Educação Médica Continuada; An Bras Dermatol, Rio de Janeiro, 78(4:393-410, jul./ag. 2003.

PAIVA, V. C. A correlação entre diferentes temperaturas e períodos de preservação sobre as fibras colágenas de meniscos de coelhos, 2006. Dissertação de Mestrado (Cirurgia e Experimentação) - Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP, Brasil.

REIS, L. L. Análise da colágenização de feridas cirúrgicas em peles de ratos submetidos a aplicação de óleo de semente de Azadirachta indica, 2008. Dissertação de Mestrado (Engenharia Biomédica) – Universidade de Mogi das Cruzes; UMC, Brasil.

SILVA, W.W.; BISSACO, M.A.S.; BONVENT, J.J. Realce linear independe em RGB para otimizar a quantificação automática do colágeno tipos I e III. In: Anais do XXII Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica, Tiradentes – MG, 2010.

SILVA, W.W.; WATANABE, W.T.; CRUZ, A.N.N.; BONVENT, J.J.; BISSACO, M.A.S. Quantificação e classificação automática de fibras de colágenas tipos I e III através de processamento de imagens histológicas. In: Anais do XXI Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica, Salvador – BA, 16-20 Nov., 2008.

SUN, Y; DUTHALER, S.; NELSON, B. J. Autofocusing in computer Microscopy: Selecting the Optimal Focus Algorithm. Microscopy Research and Technique, 65:139-149, 2004

VALLE, K. K. R.; REIS, L. L.; Bonvent, J. J.; Shida, C. S. Efeito da aplicação de microcorrente elétrica na Restauração de pele de ratos exposta à ação de radicais Livres. 21º Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica, ISBN: 978-85-60064-13-7, 2008.

### **AGRADECIMENTOS**

Ao CNPq e a FAEP/UMC pelo incentivo e apoio financeiro