

# Método para identificação de concentração de marcação histológica em região específica de um tecido

Laura Damasceno de Campos

**Abstract**—Os métodos para identificação e quantificação de distribuição histológica em um dado tecido são variados. Contabilizar e diferenciar os tipos de células que existem em uma amostra de tecido são fatores base para estudos que utilizam a avaliação histológica como parâmetro. Dentro desse contexto, este trabalho propõe-se em apresentar uma metodologia alternativa para identificação de concentração de marcação histológica em uma porção específica do tecido, utilizando o software ImageJ combinado a linguagem de programação em python. A elaboração deste resumo foi motivada como forma de contribuir no método avaliativo aplicado na disciplina de Fundamentos de Programação e Desenvolvimento de Projetos aplicados à Neuroengenharia, lecionada no Programa de Pós-Graduação em Neuroengenharia do Instituto Internacional de Neurociências Edmond e Lily Safra, de modo a sintetizar aquilo que foi explanado na resolução da Atividade Contextualizada 10. Essa atividade, por sua vez, objetiva tornar o conteúdo de programação significativo para as linhas de pesquisa desenvolvidas no Instituto, de modo que os conhecimentos adquiridos possam contribuir e interferir qualitativamente no projeto final.

## I. INTRODUÇÃO

A histologia é a clínica que estuda as células no contexto da estrutura tecidual e a inter-relação delas com os constituintes da matriz extracelular. A histotecnologia proporciona o entendimento dos fundamentos técnicos para a análise dos elementos teciduais, normais ou patológicos, isto é, suas células e os elementos da matriz extracelular, abrangendo diversas técnicas histoquímicas. (CAPUTO et al., 2020)

A quantificação nas ciências biomédicas tem como metas promover as medidas e a objetividade para estabelecer o diagnóstico. A aplicação desses métodos possibilita o aperfeiçoamento da capacidade de se estabelecer este diagnóstico e frequentemente, no campo da anatomia patológica, até mesmo o prognóstico. (TEIXEIRA et al., 2005)

Neste trabalho foram utilizados dois métodos em específico para auxiliar na identificação de marcação histológica em amostras de tecidos, sendo eles a morfometria e a estereologia. A morfometria diz respeito a qualquer técnica utilizada para estimar parâmetros quantitativos, tendo como função tornar mais objetiva e precisa a coleta, a apresentação e a análise dos resultados obtidos. Seu ponto positivo é que as técnicas utilizadas são tidas como de uso rápido e barato, a exemplo disso tem-se o software ImageJ. Em contrapartida, seu ponto negativo é que se trata de um método em que muitos vieses do usuário podem interferir, além de ser impraticável de usar em certas condições experimentais. A estereologia, por sua

vez, busca justamente evitar esse viés tendencioso do usuário, tornando possível a estimação de parâmetros quantitativos em três dimensões a partir de cortes em duas dimensões, fazendo o uso de ferramentas geométricas e estatísticas. A exemplo disso tem-se o software Stereo Investigator. Embora os já notáveis pontos positivos, trata-se de um método consideravelmente caro e que demanda muito tempo para uma análise.

Embora os métodos estereológicos estejam sendo apresentados como superiores, nem sempre a sua utilização é a recomendada, além de se estar ou não relacionada com o objetivo particular de uma dada pesquisa. No caso deste trabalho, o objetivo consistiu em encontrar uma alternativa para identificação de concentração histológica em uma amostra de tecido, utilizando-se softwares gratuitos e de fácil acesso.

## II. DESENVOLVIMENTO

O ImageJ é um programa de processamento de imagem gratuito e desenvolvido em Java. Sua principal vantagem é a possibilidade de visualizar em tempo real o resultado de diferentes técnicas de processamento de imagens através de uma interface gráfica. O Stereo Investigator, por conseguinte, é um software que fornece estimativas precisas e imparciais do número, comprimento, área e volume de células ou estruturas biológicas em uma amostra de tecido. O foco deste trabalho não foi em quantificação, mas sim em identificação de concentração de marcação histológica.

### A. Metodologia

Em Sabbagh, Govindaiah, Somaiya, Ha, Wei, Guido e Fox (2020), os autores desenvolveram um script de varredura de linha personalizado para ser executado no ImageJ, de modo a ser possível, ao término, visualizar a concentração de determinados neurônios distribuídos em uma sublâmina de um tecido. A varredura de linha foi automatizada para quantificar a expressão espacial e, com isso, evitar o viés do usuário, que é um ponto negativo nas técnicas de morfometria. Tudo isto foi executado visando a quantificação da distribuição de um tipo de célula em uma determinada região que, neste caso, foi no núcleo geniculado ventral lateral. Assim, observando-se essa metodologia, buscou-se desenvolver algo similar, de modo a possibilitar uma análise de identificação de marcação histológica utilizando um software gratuito e de fácil uso, o ImageJ, porém, também, utilizando o python, com o intuito de satisfazer aos requisitos solicitados na disciplina de

Fundamentos de Programação e Desenvolvimento de Projetos aplicados à Neuroengenharia.

Procurou-se, com isso, desenvolver um programa em python que tivesse uma funcionalidade semelhante ao script de varredura de linha personalizado desenvolvido pelos autores Sabbagh, Govindaiah, Somaiya, Ha, Wei, Guido e Fox (2020). Sabendo que o editor de scripts do ImageJ oferece suporte a muitas linguagens de programação, era possível desenvolver esse programa todo neste software, no entanto, o objetivo inicial consistia em utilizar unicamente o python sem ser pela interface do ImageJ.

Inicialmente, escolheu-se uma imagem representativa de uma lâmina com amostra de tecido histológico e procedeu-se com a sua limiarização utilizando o ImageJ. A limiarização é um método para segmentação de imagens, realizado através de uma separação que se baseia na variação de intensidade entre os pixels da imagem analisada.

Assim, o programa retornou uma imagem contendo uma sequência com as partículas numeradas encontradas na amostra e, também, as posições da imagem, em pixel, indicando quantas partículas foram encontradas e a área de cada, em pixel<sup>2</sup>.

Neste momento, notou-se que existiam limitações que impediam a execução da ideia inicial – em desenvolver um código unicamente em python sem utilizar a interface do ImageJ para lê-lo –, pois determinadas importações apenas eram possíveis de fazer utilizando o python disponível no ImageJ, não sendo encontrado até o instante outro meio de se realizar.

Logo, como não seria possível executar a ideia inicial, optou-se, então, por aproveitar os dados adquiridos na tabela fornecida pelo ImageJ a partir da limiarização e, assim, trabalhar os conhecimentos adquiridos na disciplina Fundamentos de Programação e Desenvolvimento de Projetos aplicados à Neuroengenharia. Em sequência, essa tabela foi salva em formato .xlsx, objetivando importá-la em um código desenvolvido em python e assim realizar algumas operações com os dados nela contidos.

### B. Resultados

No código desenvolvido em python, os dados foram importados utilizando-se a biblioteca Pandas. Assim, em conjunto com outra biblioteca utilizada, o Matplotlib, foi gerado um histograma representativo em que se utilizou a área das partículas encontradas através da limiarização realizada no ImageJ. Esse gráfico permite a visualização da quantidade de partículas encontradas dada a sua área.

Em consequente, utilizando-se ainda os dados das áreas das partículas, foram calculados a sua média, o desvio padrão, a mediana, o valor máximo da área da partícula encontrada na imagem do tecido histológico analisado, bem como o valor mínimo.

Por fim, com essas informações geradas, o usuário poderia escolher se desejava salvar esses dados em um arquivo de saída, podendo, se assim o quisesse, escolher o tipo de arquivo que desejava salvar, sendo possível escolher entre os formatos .txt, .csv e .xlsx.

## III. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora não se tenha conseguido alcançar o objetivo inicialmente proposto, busca-se, para trabalhos futuros, encontrar mecanismos que possibilitem não apenas a identificação de marcação histológica em uma amostra de tecido, como também a contabilização de células através da utilização de algoritmos de reconhecimento de imagens em python.

## REFERÊNCIAS

- [1] CAPUTO, Luzia Fátima Gonçalves et al. Técnicas Histológicas. Disponível em: [http://www.epsv.fiocruz.br/sites/default/files/capitulo\\_3\\_vol2.pdf](http://www.epsv.fiocruz.br/sites/default/files/capitulo_3_vol2.pdf). Acesso em: 30 set. 2020.
- [2] DIAS, Alessandro Willian de Souza. Sistema de Aquisição e Tratamento de Imagem para Auxílio na Contagem de Células Sanguíneas. 2014. 92 f. Monografia (Especialização) - Curso de Desenvolvimento de Produtos Eletrônicos, Departamento Acadêmico de Eletrônica, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Santa Catarina, Florianópolis, 2014. Disponível em: [https://professorpetry.com.br/Ensino/Defesas\\_Pos\\_Graduacao/Defesa%2044\\_Alessandro%20Willian%20de%20Souza%20Dias\\_Sistema%20de%20Aquisicao%20e%20Tratamento%20de%20Imagem%20para%20Auxilio%20na%20Contagem%20de%20Células%20Sanguíneas%20.pdf](https://professorpetry.com.br/Ensino/Defesas_Pos_Graduacao/Defesa%2044_Alessandro%20Willian%20de%20Souza%20Dias_Sistema%20de%20Aquisicao%20e%20Tratamento%20de%20Imagem%20para%20Auxilio%20na%20Contagem%20de%20Células%20Sanguíneas%20.pdf). Acesso em: 22 set. 2020.
- [3] PANTOJA, Fernanda Marques; BARROSO, Marta Feijó; VIANA, Nathan Bessa. Tutorial: image j - análise automatizada. Image J - Análise Automatizada. 2014. Disponível em: [https://www.if.ufrj.br/~pef/producao\\_academica/dissertacoes/2014\\_Fernanda\\_Pantoja/fernandapantoja\\_matinstruc\\_3.pdf](https://www.if.ufrj.br/~pef/producao_academica/dissertacoes/2014_Fernanda_Pantoja/fernandapantoja_matinstruc_3.pdf). Acesso em: 22 set. 2020.
- [4] SABBAGH, Ubadah; GOVINDAIAH, Gubbi; SOMAIYA, Rachana D.; HA, Ryan V.; WEI, Jessica C.; GUIDO, William; FOX, Michael A.. Diverse GABAergic neurons organize into subtype-specific sublaminae in the ventral lateral geniculate nucleus. Journal Of Neurochemistry. Aa, p. 1-19. 19 maio 2020.
- [5] TEIXEIRA, Vicente de Paula Antunes et al. Princípios Básicos e Aplicações da Morfometria. 2005. Disponível em: <http://www.luzimarteixeira.com.br/wp-content/uploads/2011/01/principios-basicos-e-aplicacoes-da-morfometria.pdf>. Acesso em: 30 set. 2020.
- [6] VIANA, Débora Leal; FIGUEIRA, Cláudio Pereira; DOS-SANTOS, Washington Lc. Manual de Morfometria da Espessura da Membrana Basal Glomerular. 2018. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/iciet/26177/2/Manual%20de%20mensura%20C3%A7ao%20PUBLICADO.pdf>. Acesso em: 21 set. 2020.