



O PROGRAMA IMAGE J COMO FERRAMENTA DE ANÁLISE MORFOMÉTRICA DE FERIDAS CUTÂNEAS

Danilo Ferreira Rodrigues^{1*}, Fernanda Figueiredo Mendes¹, Taís Andrade Dias¹, Arielly Rodrigues de Lima², Luiz Antônio Franco da Silva³

¹Doutorando(a) do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil
(*Email: dan_rodrigues2@yahoo.com.br)

²Graduanda em Medicina Veterinária da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil.

³Professor Doutor da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil.

Recebido em: 30/09/2013 – Aprovado em: 08/11/2013 – Publicado em: 01/12/2013

RESUMO

A avaliação morfométrica de feridas é um método bastante utilizado para mensuração, porém, o uso de réguas pode gerar resultados imprecisos, facilitar a contaminação e causar desconforto ao animal durante a mensuração. Neste contexto o programa analisador de imagens Image J poderia ser uma ferramenta promissora na mensuração de feridas cutâneas. O objetivo com este estudo foi determinar se a avaliação morfométrica digital pelo programa Image J é eficiente na mensuração de feridas cutâneas em comparação ao método matemático de mensuração básica. Foram utilizados seis coelhos da raça Nova Zelândia hígidos. Os animais foram anestesiados e foi confeccionada uma ferida no dorso de cada animal com um *punch metálico* circular. As feridas foram mensuradas por dois métodos: método matemático, estabelecido pela equação $A = \pi.R.r$, A=área total; $\pi=3,14$; R= raio maior da ferida; r=raio menor da ferida, representando o grupo I (GI); e mensuração da ferida pelo programa Image J, grupo II (GII). A média das áreas mensuradas foi de $0,72\text{cm}^2$ no GI e de $0,66\text{cm}^2$ no GII, não havendo diferença estatística entre os grupos. Apesar da ausência de diferença entre os métodos de avaliação, a mensuração da área de feridas pelo programa Image J forneceu valores precisos como o método matemático de mensuração básica, sem trazer riscos de contaminação ou desconforto ao animal durante a mensuração. Além disso, a falta de diferença estatística demonstra que o Image J pode substituir o método matemático sem prejuízos à pesquisa e reduzir a subjetividade dos resultados.

PALAVRAS-CHAVE: cicatrização; diagnóstico por imagem; fotografia digital; planimetria digital

THE IMAGE J SOFTWARE AS A TOOL FOR MORPHOMETRIC ANALYSIS IN CUTANEOUS WOUNDS

ABSTRACT

The morphometric method is widely used for the measurement of wounds, however, the use of rulers may generate inaccurate results, facilitates the contamination of the wound and cause discomfort to the animal during the measurement. In this context,

the image analyzer program Image J could be a promising tool to measurement of skin wounds. The aim of this study was to determine if the digital morphometric analysis by Image J is efficient in the measurement of skin wounds in comparison with the basic mathematical method of measuring. It was used six New Zealand rabbits healthy. The animals were anesthetized and a wound was made on the dorsum of each animal with a circular metal punch. The wounds were measured by two methods: mathematical method established by the equation $A = \pi.Rr$, A = total area, $\pi = 3.14$, R = greater radius wound, r = smaller radius wound, representing the group I (GI), and measurement of the wound by the program Image J, Group II (GII). The average of the area measured was 0.72 cm² 0.66 cm² GI and GII, with no statistical difference between groups. Despite the lack of difference between the methods, measurement of the wound area by Image J provided accurate values as the basic mathematical method, without bringing contamination risks or discomfort to the animal. Furthermore, the lack of statistical difference demonstrates that the Image J can replace the mathematical method without losses and reduce the subjectivity of the results.

KEYWORDS: diagnostic imaging; digital planimetry; digital photography; wound healing

INTRODUÇÃO

A necessidade do desenvolvimento de protocolos terapêuticos que auxiliem a cicatrização impulsiona uma série de pesquisas na área da saúde com o objetivo de proporcionar qualidade no processo cicatricial e minimizar o tempo de resolução da injúria tecidual (MANDELBAUM et al., 2003). Desta forma, existe a necessidade de métodos práticos e confiáveis que permitam descrever e quantificar o tamanho da ferida, caracterizar a cicatrização e comparar a mesma ferida em diversos momentos do processo cicatricial, ou seja, uma ferramenta indispensável para o acompanhamento da resposta tecidual frente a diferentes intervenções terapêuticas (LAGAN et al., 2000).

A avaliação clínica e a mensuração macroscópica de feridas cutâneas são os métodos mais comuns para estudos em cicatrização (LIMA et al., 2012). A avaliação morfométrica macroscópica, ou planimetria, consiste na mensuração do diâmetro da ferida com o objetivo de se estabelecer um parâmetro comparativo entre a primeira medida e as demais medidas obtidas durante a evolução o processo cicatricial (CARDINAL et al., 2009). Esta avaliação pode ser realizada pela mensuração direta da ferida durante o exame clínico, necroscópico ou utilizando métodos de diagnóstico por imagem como a ultrassonografia, ressonância magnética, tomografia computadorizada e a utilização de programas de mensuração de imagens (MENEZES et al., 2008). Como exemplo, tem-se o modelo matemático de mensuração básica de feridas descrito por PRATA et al., (1988), determinado pela equação: $A = \pi.R.r$, em que: A=área total; $\pi=3,14$; R= raio maior da ferida; r=raio menor da ferida.

A mensuração direta da ferida com instrumentos de precisão como paquímetros, por haver contato do material de mensuração com a ferida, causa desconforto ao paciente durante a avaliação. Com isso, o método de mensuração de imagens por programas computacionais vem ganhando cada vez mais destaque. Neste método, denominado de morfometria digital, uma câmera digital é posicionada a uma distância fixa da ferida para a captura de imagens. Em seguida essas imagens são analisadas em um programa de mensuração de imagens, o qual

permite a obtenção da medida inicial, podendo ser comparada com as outras mensurações no decorrer da cicatrização para avaliação da evolução cicatricial (CARDINAL et al., 2009).

Esse estudo objetivou determinar se a avaliação morfométrica digital pelo programa gratuito Image J é eficiente na mensuração de feridas em comparação ao método matemático básico.

MATERIAL E METODOS

O presente estudo possui aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás, protocolo nº 026/2012. Foram utilizados seis coelhos da raça Nova Zelândia, com seis meses de idade, hígidos e peso médio de 3 kg, esses foram alocados em gaiolas individuais no Biotério de Experimentação em Roedores e Leporinos da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás e mantidos conforme as orientações da Sociedade Brasileira em Ciência de Animais de Laboratório.

Após um período de adaptação de 15 dias, os animais foram pré-anestesiados com 2mg/kg de cloridrato de tramadol, por via intramuscular. Após dez minutos foi realizada a anestesia dissociativa pela associação de 5mg/kg de cloridrato de xilazina e 40mg/kg de cetamina, por via intramuscular. Em seguida procedeu-se a tricotomia do dorso do animal e antissepsia com clorexidina e álcool. Em cada animal foi realizada uma ferida circular de 8mm, com auxílio de um *punch* metálico. As bordas das feridas foram fixadas em quatro pontos separados simples com fio de nylon 4-0, para se evitar a contração fisiológica e facilitar a observação do processo cicatricial.

Posteriormente foram realizados dois métodos de mensuração da área da ferida, representando desta forma os grupos experimentais: GI, modelo matemático; e GII, Image J. No primeiro método (GI), realizou-se a mensuração com uma régua sobre a área da ferida e utilizou-se a fórmula pré estabelecida $A = \pi.R.r$, em que: A=área total; $\pi=3,14$; R= raio maior da ferida; r=raio menor da ferida, como descrito por PRATA et al., (1998) (Figura 1).

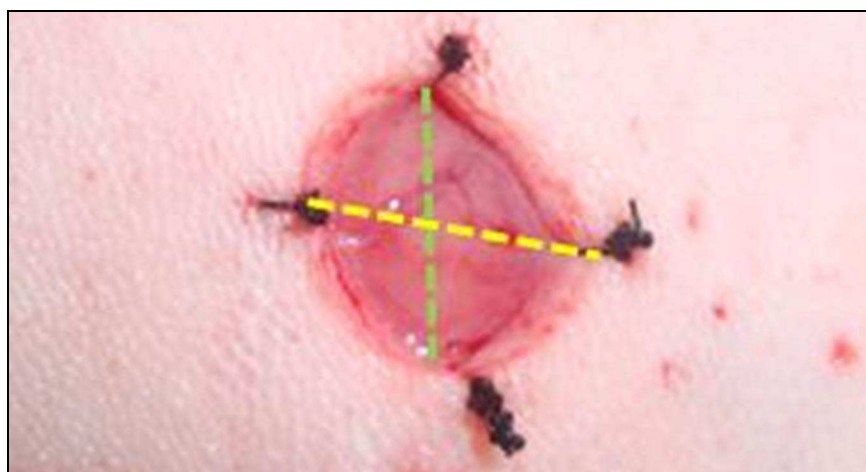


FIGURA 1- Exemplo da mensuração realizada no grupo GI pelo método descrito por PRATA et al., (1988). Linha amarela, diâmetro maior. Linha verde diâmetro menor (os diâmetros devem ser divididos por dois para se obter o raio).

No segundo método (GII), as feridas foram fotografadas empregando uma câmera digital (Cybershot Sony w-130) a uma distância média de 15cm e foi utilizada uma régua para servir de escala, sem que essa entrasse em contato com a ferida. As imagens foram analisadas no programa gratuito Image J versão 1.36b (Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA), disponível no endereço eletrônico <http://rsbweb.nih.gov/ij/index.html>. Cada imagem foi aberta no programa e em seguida foi realizada a mensuração da distância de 1cm na régua que foi fotografada juntamente com a ferida, para a escolha da escala em centímetros, por meio da ferramenta *Straight line selection* e a opção *Set scale* na guia *Analyze* (Figura 2A). Na sequência foi utilizada a ferramenta de corte (*Cut*) da guia *Edit* para isolar ao máximo apenas a ferida (Figura 2B).

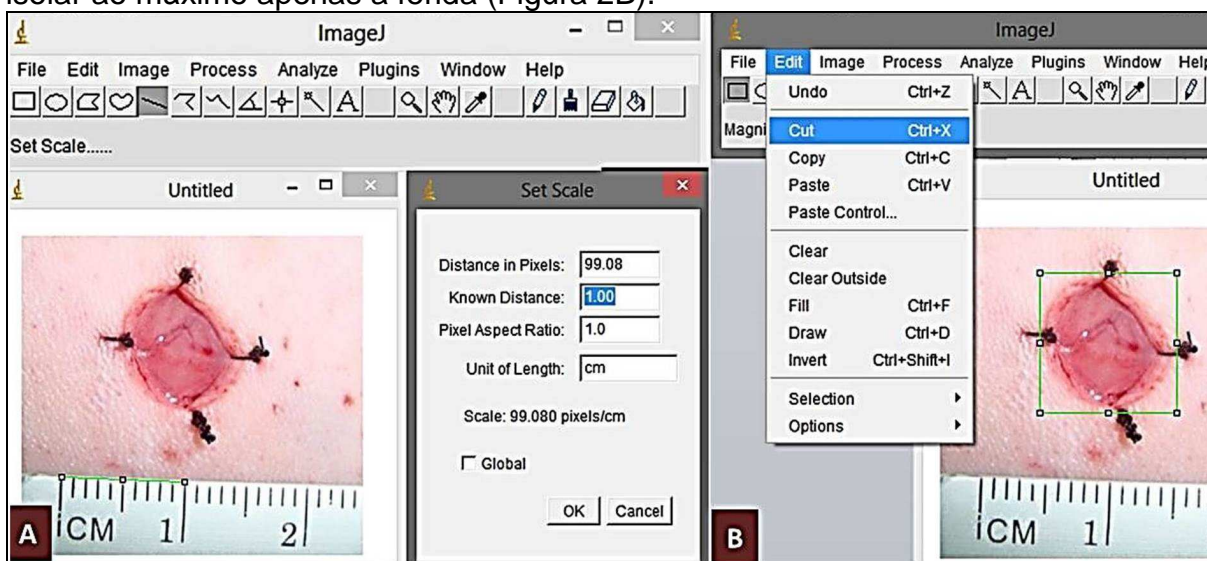


FIGURA 2 -Primeiros passos para a mensuração de feridas cutâneas pelo programa Image J versão 1.36b: A-padronização da escala em centímetros; B- isolamento da área da ferida

Em seguida foi utilizada a ferramenta *brightness/contrast* na guia *ajust*, para realçar ao máximo o contraste da imagem (Figura 3).

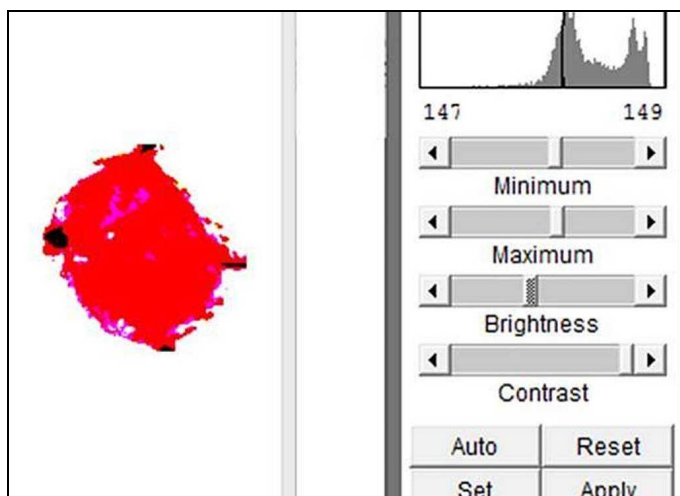


FIGURA 3 – Realce do contraste da ferida pela ferramenta *brightness/contrast* no programa Image J

Posteriormente foi utilizado o *plugin treshhold color* da guia *Plugins* na opção *Color*, para delimitar apenas a área da ferida, ajustada na barra *saturation* (Figura 4).

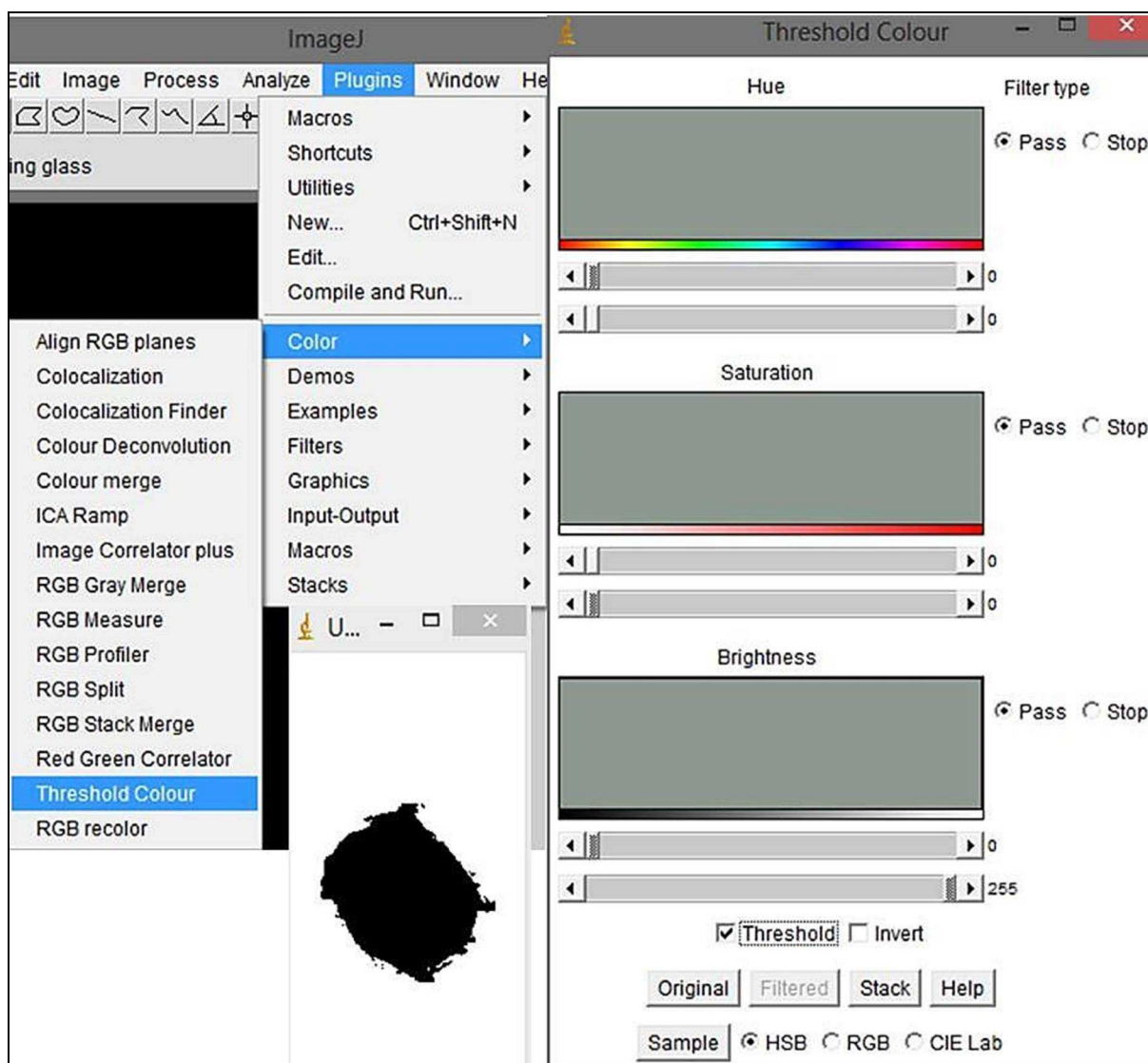


FIGURA 4 - Delimitação da área da ferida em preto por meio do *plugin treshhold color* da guia *Plugins* no programa Image J

Após esse procedimento a imagem foi convertida para o tipo *8 bit* na guia *Image*, na função *Type* (Figura 5A). Posteriormente a imagem resultante foi submetida à ferramenta *analyze particles* da guia *analyze* (Figura 5B), que forneceu a área final da ferida em centímetros (Figura 5C).

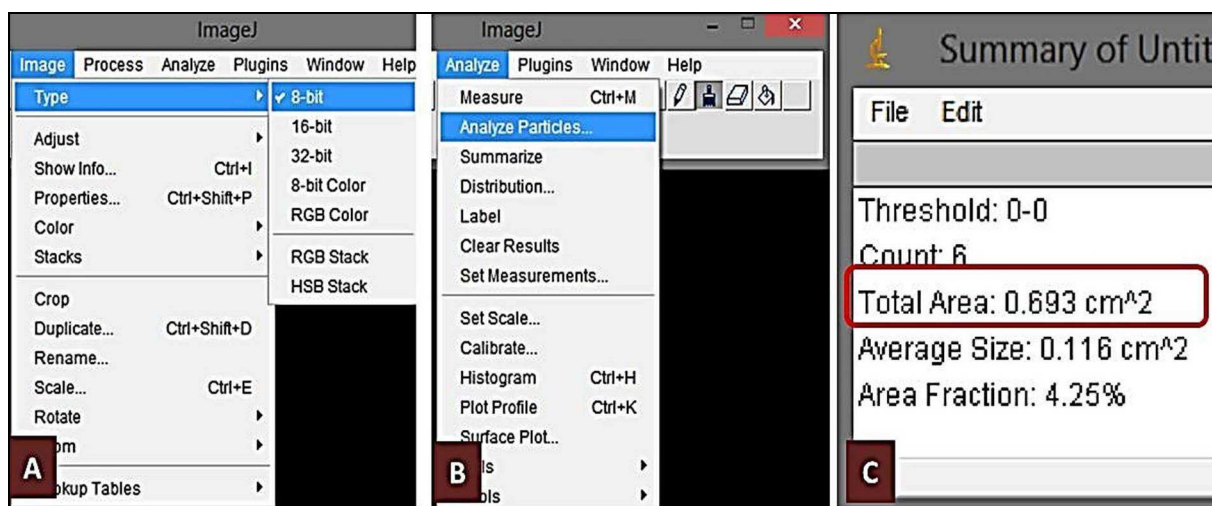


FIGURA 5 - Finalização do procedimento de mensuração de feridas pelo programa Image J: A) Conversão da imagem para 8bit; B) Utilização da função *Analyze particles*; C) Resultado final da área medida (contorno vermelho).

Como medicação analgésica, os animais receberam 2mg/kg de cloridrato de tramadol por via subcutânea a cada oito horas durante três dias e curativos diários com solução de NaCl a 0,9% até a completa cicatrização das feridas. Para a análise estatística foi utilizado o teste t de *Student* no programa xlstat 2013, com $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a análise das imagens no programa Image J foi observado que algumas apresentaram-se com as cores da ferida similares as cores da região ao redor da mesma (pele), provavelmente pela hiperemia inicial do processo de reparo, sendo necessária a utilização da ferramenta *Paintbrush*, para colorir áreas internas da ferida que apresentavam-se muito claras em decorrência da utilização de algumas fotos com o *flash* da câmera. Essa observação indica que a captura da imagem deve ser realizada sem a utilização do *flash* e em ambientes bem iluminados para facilitar a análise, o animal deve estar devidamente contido, pois, leves movimentações durante a captura da imagem podem aumentar ou reduzir a área da ferida. Além disso, pode alterar a qualidade da imagem que fica fora de foco, gerando desta forma valores errados. Outro fator importante a ser abordado é que a câmera deve estar em um local fixo (em um tripé) para manter um padrão de imagem.

A média dos valores obtidos pelo método matemático foi de $0,72\text{cm}^2$ com desvio padrão de 0,1762 e a média dos valores nas feridas submetidas à análise pelo Image J foi de $0,66\text{cm}^2$, com desvio padrão de 0,1465. Não houve diferença estatística entre os métodos ($p=0,096$), como descrito na Tabela 1.

TABELA 1 -Média da área das feridas de coelhos em cm² obtidas pelo método matemático e pelo programa Image J. Os resultados demonstram que não houve diferença estatística entre os tipos de mensuração.

Análise	GI (Método matemático)	GII (Image J)
Média	0,72	0,66
Desvio padrão	0,1762	0,1465
<i>P</i>	0,096	

A utilização de programas analisadores de imagens em feridas já foi descrita anteriormente, como nos estudos realizados por ALMEIDA (2006), FERREIRA et al., (2008), SOUSA et al., (2012) e SANTOS et al., (2013). Entretanto, nem todos estes programas são gratuitos, diferentemente do Image J que está disponível gratuitamente na internet. Além disso, este método de avaliação gera menos desconforto ao paciente, visto que não é necessário tocar na lesão, diferentemente da mensuração pelo método matemático, em que a régua ou o paquímetro entra em contato direto com a lesão para se proceder a mensuração.

Apesar do método de mensuração pelo Image J ser mais trabalhoso e de não haver diferença entre os métodos de análise neste experimento, as medidas obtidas pelo método de planimetria digital forneceram valores mais precisos e sem a necessidade de entrar em contato com a lesão. É importante ressaltar que as feridas deste estudo eram de formato circular, portanto de fácil mensuração de área, já em estudos que utilizam feridas de contornos irregulares a mensuração pelo programa Image J possivelmente seria muito mais eficaz, visto que não seriam necessários cálculos matemáticos mais complexos.

Em estudo realizado por MUNIZ et al., (2013) foi realizada técnica similar a deste trabalho para avaliar o processo cicatricial em ratos, porém com uso de um programa indisponível gratuitamente. A técnica de planimetria digital foi eficaz e prática para a mensuração da área das feridas, com resultados precisos que trouxeram melhor respaldo científico ao estudo. Resultado similar foi encontrado por REIS et al., (2012) ao avaliar feridas provenientes de úlceras de pressão, sem contorno definido. Nesse caso, os pesquisadores utilizaram um programa indisponível gratuitamente que facilitou a aquisição precisa da área da ferida, o que disponibilizou resultados palpáveis quanto a avaliação do processo cicatricial. Ambos os estudos demonstram a superioridade da planimetria digital em relação ao método matemático e clínico básico. Além disso, por ser gratuito, o Image J apresenta maior facilidade de aquisição para utilização como método de planimetria digital por pesquisadores de diferentes instituições.

A avaliação clínica das feridas é um dos métodos mais frequentemente utilizados para se avaliar a evolução do processo cicatricial, no entanto ela é bastante subjetiva (LIMA, 2010) e considerada como a forma de avaliação mais básica (LIMA et al., 2012). Deste modo a utilização de métodos mais precisos de mensuração de feridas como a planimetria digital, possível pelo programa em estudo, geram resultados mais fidedignos e fornecem maior respaldo científico para pesquisas sobre cicatrização de feridas. Além disso, é um método simples, de baixo custo, que apresenta redução de riscos de contaminação da ferida e menor desconforto para a mensuração.

CONCLUSÕES

O método de mensuração da área de feridas pelo programa Image J versão 1.36b é tão eficiente quanto o método matemático, pois fornece valores precisos da área real da ferida, o que traz um respaldo científico maior ao trabalho por reduzir a subjetividade dos resultados. Portanto, a utilização deste programa como método de mensuração e avaliação do processo de cicatrização de feridas cutâneas é uma opção eficaz.

AGRADECIMENTOS

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, R.M. **Avaliação do processo de cicatrização de lesões, tratadas com laser de baixa intensidade, através de sistema de aquisição e tratamento de imagem**. 2006. 111f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) - Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

CARDINAL, M., EISENBUD, D.E., ARMSTRONG, D.G. Wound shape geometry measurements correlate to eventual wound healing. **Wound Repair and Regeneration**, Saint Louis, v.17, p. 173-178, 2009.

FERREIRA, A. S.; BARBIERI, C. H.; MAZZER, N., CAMPOS, A. D.; MENDONÇA, A. C. Mensuração de área de cicatrização por planimetria após aplicação do ultra-som de baixa intensidade em pele de rato. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, São Carlos, v. 12, n.5, p.351-358, 2008.

LAGAN, K.M., DUSOIR, A.E., McDONOUGH, S.M., BAXTER, G.D. Wound measurement: the comparative reliability of direct versus photographic tracings analyzed by planimetry versus digitizing techniques. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, Chicago, v.81, n.8, p.1110-1116, 2000.

LIMA, C.R.O. **Reparação de feridas cutâneas incisionais em coelhos após tratamento com barbatimão e quitosana**. 2010. 105f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás. Goiânia.

LIMA, C.R.O., RABELO, R.E., MOURA, V.M.B.D., SILVA, L.A.F., TRESVENZOL, L.M.F. Cicatrização de feridas cutâneas e métodos de avaliação. Revisão de literatura. **Revista CFMV**, Brasília, ano 18, n.56, p.53-59, 2012.

MANDELBAUM, S. H.; DI SANTIS, E. P.; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – parte I. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 78, n. 4, p.393-410, 2003.

MENEZES, F.F., COELHO, M.C.O.C., LEÃO, A.M.A.C. Avaliação clínica e aspectos histopatológico de feridas cutâneas de cães tratadas com curativo temporário de pele. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, Londrina, v. 2, p. 1-3, 2008.

MUNIZ, C.F., ROCHA, A.V.E., BATISTA, M.G., TAVARES, J.P., SILVA, C.S. Avaliação macroscópica do efeito do látex de *Croton urucurana Baillon* no processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos. **Revista Amazônia Science & Health**, Gurupi, v. 1, n. 1, p. 5-12, 2013.

PRATA, M., HADDAD, C., GONDENBERG, S. Uso tópico do açúcar em ferida cutânea: estudo experimental em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 3, p. 43-48, 1988.

REIS, C. L. D., Cavalcante, J. M., Rocha Júnior, E.F., NEVES, R.S., Santana, L.A., Guadagnin, R.V., Brasil, L.M. Mensuração de área de úlceras por pressão por meio dos softwares Motic e do AutoCAD®. **Revista Brasileira de Enfermagem**, Rio de Janeiro, v. 65, n. 2, p. 304-308, 2012.

SANTOS, C. F. F.; SANTOS, A. P.; MACHADO, T. G. P.; AVELAR, N. C. P.; OLIVEIRA, M. X.; ALMEIDA, T. C.; FRANÇA, A. F. A.; PIRES, V. A. Cicatrização de feridas cutâneas em ratos após terapia laser de baixa intensidade (660nm). **Revista Vozes dos Vales: Publicações Acadêmicas**, Diamantina, n.3, ano II, p.1-13, 2013.

SOUSA, A. T. O.; VASCONCELOS, J. M. B.; SOARES, M. J. G. O. Software Image Tool 3.0 as an instrument for measuring wounds. **Journal of Nursing**, Recife, v. 6, n. 10, p.2569-2573, 2012.