

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA - CAMPUS DE BOTUCATU**

**EMPREGO DA FOTOGRAFIA DIGITAL PARA AVALIAÇÃO DA
TOPOGRAFIA MICROSCÓPICA DA PELE**

LARISSA MARÍLIA CHAMBÔ CORDARO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Patologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista – UNESP, para obtenção do título de Mestre em Patologia.

BOTUCATU – SP

2008

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA - CAMPUS DE BOTUCATU**

**EMPREGO DA FOTOGRAFIA DIGITAL PARA AVALIAÇÃO DA
TOPOGRAFIA MICROSCÓPICA DA PELE**

**MESTRANDA: LARISSA MARÍLIA CHAMBÔ CORDARO
ORIENTADOR: HÉLIO AMANTE MIOT**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Patologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista – UNESP, para obtenção do título de Mestre em Patologia.

BOTUCATU – SP

2008

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO DE AQUIS. E TRAT. DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE

Cordaro, Larissa Marília Chambô.

Emprego da fotografia digital para a avaliação da topografia microscópica da pele / Larissa Marília Chambô Cordaro. – Botucatu : [s.n.], 2008.

Dissertação (mestrado) – Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2008.

Orientador: Prof. Hélio Amante Miot

Assunto CAPES: 40101029

1. Dermatologia. 2. Fotografia – Técnicas digitais. 3. Pele.

CDD 616.5

Palavras-chave: Envelhecimento da pele; Fotografia; Hidratação; Topografia.

DEDICATÓRIA

Ao meu marido, Fernando,

Pelo seu apoio e companhia em cada momento deste trabalho. Sua paciência, amizade e amor são fundamentais em minha vida. Sem sua presença ao meu lado, todo este trabalho não teria se concretizado.

Aos meus pais, Teresa e Chambô,

Pelo exemplo de família, amor incondicional e apoio constante em todas as etapas da minha vida. A vocês dedico mais esta conquista e meu amor.

Aos meus irmãos, Alessandra e Chambozinho, meus cunhados Marcelo e Fernanda, e sobrinhos, Isabella, Henrique e Guilherme,

Pela compreensão da minha ausência e apoio inquestionável em minhas atitudes. Obrigada pelo carinho e amor que recebo a cada dia.

A minha filha Júlia,

Apesar de ainda não ter nascido, já ter se tornado o meu maior incentivo para esta realização. Sua presença é a razão da minha energia, persistência e luta.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me dar força e segurança para que eu conseguisse alcançar meus objetivos.

Aos meus sogros, Maria Lúcia e Fernando, e meu cunhado Luis Gustavo, pela compreensão da minha ausência e carinho.

Às amigas Liana Sousa Coelho e Suzana Erico Tanni, pela companhia e pelo carinho com que me receberam em suas casas.

Aos amigos Paula Schimdt, Rafael Gaiolla e seus filhos Sofia e Guilherme, pela atenção, apoio e carinho. Obrigada por me permitirem participar da família de vocês.

À amiga Luciane Donida Bartoli Miot, pelo apoio e incentivo durante todo o desenvolvimento do trabalho e, principalmente, a paciência e abdicção dos momentos em família na finalização deste projeto.

À pequena Maria Clara cuja simples presença me serviu de incentivo a concluir esta pesquisa.

Aos amigos Deborah Cavalcanti, Eric Rosa, seus filhos Lucas e Rafael, e Juliana Cruz por estarem sempre ao meu lado.

Aos pacientes, que entenderam a necessidade do trabalho e contribuíram para a sua realização.

Ao Departamento de Dermatologia, pela oportunidade de desenvolvimento da pesquisa e disponibilização da estrutura ambulatorial.

À Eliete Soares, fotógrafa do Departamento de Dermatologia, pela ajuda, atenção e disponibilidade em todos os momentos que foram necessários.

À Tânia Andrade, secretária da Pós-graduação da Patologia, pela atenção e paciência em todos os momentos de dúvidas.

Aos funcionários da Seção de Pós-graduação, pela educação, atenção e carinho em todos os momentos.

Enfim, e mais especialmente, ao meu orientador Hélio Amante Miot, pela orientação segura, dedicação integral e competência inquestionável. Pela amizade em todos esses anos de convívio, mas principalmente por sempre exigir o melhor de mim sendo o grande responsável pelo meu desenvolvimento e crescimento intelectual.

Trabalho realizado no ambulatório do
Departamento de Dermatologia e
Radioterapia da FMB-Unesp.

SUMÁRIO

REVISÃO DA LITERATURA	7
1. INTRODUÇÃO	7
1.1 Topografia microscópica da pele	10
1.2 Métodos de avaliação da topografia microscópica da pele.....	12
1.4 Profilometria mecânica	14
1.5 Profilometria a laser	15
1.6 Profilometria por transparência.....	16
1.7 Fotografia digital e análise de imagem digital	17
1.7.1 Representação da imagem no domínio do espaço e da frequência.....	22
1.7.2 Medidas de complexidade da imagem	29
1.8 Dermatoscopia.....	33
1.9 Avaliação da microtopografia da pele usando fotografia digital	34
1.10 Referências Bibliográficas	37
ARTIGO CIENTÍFICO	45
PERSPECTIVAS.....	81
Anexo I	85
Anexo II	88
Anexo III	89
Anexo IV.....	90

REVISÃO DA LITERATURA

1. INTRODUÇÃO

A pele é um órgão complexo que pertence ao sistema tegumentar humano, sua origem embrionária é, principalmente, ectodérmica, e representa mais de 15% do peso corpóreo; mostra-se flexível, complacente, elástica e dotada de grande capacidade renovadora e de reparação, reveste todo o organismo sendo responsável por isolar os componentes orgânicos do meio exterior. Toda sua superfície é composta por sulcos e saliências, que podem se apresentar de forma mais evidente em determinadas regiões, como por exemplo, a palmo-plantar.¹

A principal função da pele é conservar a homeostasia do corpo, representada pela termorregulação, secreção sudorípara, controle hemodinâmico, proteção mecânica dos órgãos internos, proteção imunológica (primária e secundária) e a secreção sebácea, importantes para manter a pele eutrófica.^{1,2}

É composta por três camadas de tecidos: a epiderme (superficial), a derme (intermediária) e o tecido celular subcutâneo (profunda). A epiderme, camada mais externa, é a responsável pela função de barreira da pele, compondo uma função imunológica importante para o organismo. Apresenta como última etapa da sua diferenciação a camada córnea, formada por células mortas, achatadas e anucleadas aderidas entre si por uma solução de lipídios e proteínas com a função de evitar a perda de água e a troca osmótica com o ambiente.¹

A derme, disposta imediatamente abaixo da epiderme, é uma camada de tecido conjuntivo composta por fibras elásticas, colágenas e reticulares em que são encontradas estruturas vasculares, nervosas e anexos epidérmicos (glândulas sudoríparas e sebáceas, e folículos pilossebáceos). A principal função da derme é a

sustentação e a resistência à tração, sua interação com a epiderme é fundamental para a manutenção de ambos os tecidos, colaborando no processo de reparação da pele.²

A hipoderme, ou tecido celular subcutâneo, é a camada mais profunda da pele. É composta por tecido adiposo delimitado por septos de colágeno. Exerce importante função de proteção dos órgãos internos contra traumatismos, reserva energética para o organismo e isolante térmico.¹

A pigmentação melânica da pele, geneticamente determinada, é a responsável direta por maior ou menor tolerância de um indivíduo à exposição solar. Apesar de não terem sido demonstradas diferenças quantitativas entre os melanócitos dos diferentes grupos étnico-raciais, os melanossomas de indivíduos de pele mais escuras são maiores e repletos de eumelanina. Há também, nas peles de fototipos mais altos, aumento das camadas do estrato córneo. A pigmentação da pele pode ser classificada em fototipos de acordo com Fitzpatrick, 1999 (Tabela 1.1).^{3, 4}

Tabela 1.1. Classificação em fototipos segundo Fitzpatrick.⁴

I	Sempre se queima, nunca se bronzeia
II	Sempre se queima, bronzeia pouco
III	Bronzeia muito, queima pouco
IV	Bronzeia sempre, queima nunca
V	Altamente pigmentada
VI	Negro

A participação das estruturas constituintes da pele, nas diversas áreas do corpo, é heterogênea e adquiriu funcionalidades particulares no desenvolvimento da espécie humana. Como, por exemplo, a maior espessura da epiderme das mãos, a resistência da derme no dorso e a espessura da hipoderme na porção proximal dos membros e de todo o tronco.

A pele, como um órgão exposto, exerce muita influência nas relações sociais,

seja no âmbito profissional ou pessoal, é conhecida como “espelho” do corpo, revelando, à primeira vista, sensações de saúde ou doença.^{5, 6} O estigma social e impacto na qualidade de vida decorrentes da doença cutânea são importantes nesse contexto.⁷ Uma pele sem alterações de coloração, textura e com brilho reflete um bem estar físico e psicológico. Ademais, o indivíduo que se sente bem com sua aparência (auto-estima) apresenta maior segurança para realizar suas atividades e conquistas.^{1, 8-11}

O aspecto clínico visual ou tátil da pele depende da espessura da camada córnea e da quantidade e organização do colágeno, estimando, de forma indireta, o seu estado funcional.¹²

A textura da pele é avaliada subjetivamente pela percepção tátil do observador e, com isso, está sujeita simultaneamente a múltiplas variáveis. A diminuição do manto lipídico irá provocar alterações na queratinização, com acúmulo de células na camada córnea e conseqüente descamação e xerose intensa da pele o que altera a percepção superficial, tornando-a mais áspera.

Algumas doenças cutâneas também modificam a camada córnea, isso ocorre por estímulo de crescimento celular (psoríase), alterações congênitas da queratinização (ictioses), alterações sudorais e do manto lipídico (dermatite atópica) e exposição acentuada a radiação ultravioleta (queratoses actínicas e fotoenvelhecimento).^{13, 14}

Resíduos de poeira, irritação cutânea, dermatites de contato, limpeza abrasiva ou sudorese também alteram características físico-químicas da camada córnea, interferindo na percepção visual e tátil da pele. Dessa forma, a textura da pele pode apresentar diferenças perceptíveis mesmo ao longo do mesmo dia, ou em áreas diferentes do corpo.¹⁴⁻¹⁸

Por outro lado, as modificações ocorridas na pele durante a vida podem refletir uma alteração adaptativa a situações de necessidade, como mecanismos de defesa, por exemplo. Podemos observar essas mudanças ao avaliarmos a pele de indivíduos que vivem em locais com grande exposição solar, como as populações andinas autóctones, em que freqüentemente encontramos uma pele mais espessa e pigmentada.^{3, 19} Esses fatores podem ter contribuído para desenvolvimento das populações melhor adaptadas aos diferentes locais do planeta.^{10, 20}

1.1 Topografia microscópica da pele

A superfície da pele é formada por sulcos (linhas) e saliências de vários tamanhos e profundidades. Tais irregularidades representam alterações plásticas da derme que ocorrem durante toda a vida, resultados de um contínuo processo de movimentação associado ao envelhecimento fisiológico ou patológico. Resultam, portanto, da organização tridimensional da epiderme, derme e tecido celular subcutâneo. Essa topografia microscópica é conhecida como “quadriculado da pele”, estima indiretamente o grau de envelhecimento e permite a análise indireta da textura e hidratação cutânea.^{5, 13, 21-26}

De acordo com a classificação de Hashimoto (Tabela 1.1.1), é possível categorizar esses sulcos medindo-se a profundidade que apresentam. Dessa forma são divididos em sulcos ou linhas primárias (20 - 100 μm), secundárias (5 - 40 μm), terciárias ($\pm 0.5 \mu\text{m}$) e quaternárias (0.5 μm), formando juntos a micro topografia superficial da pele (Figura 1.1.1). Apenas os primeiros dois grupos (primários e secundários) podem ser observados a olho nu.²⁷

Tabela 1.1.1. Classificação dos sulcos da superfície da pele segundo classificação de Hashimoto.²⁷

Tipos de sulcos	Tamanho	Características
Sulcos primários	20 - 100 μm	Macroscópicos Sulcos largos e profundos
Sulcos secundários	5 - 40 μm	Sulcos mais finos e menores Derivados dos sulcos primários ou independentes
Sulcos terciários	$\pm 0.5 \mu\text{m}$	Microscópicos Bordas das camadas celulares
Sulcos quaternários	$<0,5 \mu\text{m}$	Microscópicos Bordas celulares

**Figura 1.1.1.** Fotografia do antebraço que demonstra a topografia microscópica da pele apresentando sulcos de vários tamanhos e profundidades: sulcos primários (*) e secundários (+) (Aumento de 28x).

O “quadriculado da pele” difere das rugas, pois é formado por sulcos primários e secundários. Estes podem ser visualizados a olho nu e estão presentes nos indivíduos, em diferentes intensidades, desde o nascimento. Entretanto, as linhas primárias mostram maior grau de intensidade e desordem (anisotropia) com a idade, o que pode ser estimado quantitativamente.^{5, 22, 28}

As rugas são adquiridas com a idade e o processo de envelhecimento. Podem ser divididas de acordo com a alteração causal principal (envelhecimento, perda de estruturas dérmicas e do tecido conjuntivo da hipoderme, fatores externos) e topografia específica. Podem ser classificadas em atróficas, elastóticas, de

expressão e gravitacionais.⁵

1.2 Métodos de avaliação da topografia microscópica da pele

Há vários métodos, diretos e indiretos, para realização da análise da topografia microscópica da pele. Um dos métodos indiretos mais empregados para essa avaliação é a profilometria óptica²⁹ (Tabela 1.2.1).

Os métodos diretos são menos utilizados e se referem à avaliação subjetiva, dermatoscopia, interferometria a laser e capacitância da pele.

Tabela 1.2.1. Diferentes tipos de profilômetros.²¹

Método	Princípio	Resolução / Distância / CV %	Duração	Vantagens	Desvantagens
Profilometria óptica	mede a reflexão da luz nos sulcos e rugas	Resol. 0,1 µm Dist. 1,0 mm CV 3%	M - 1 min S - 3-4 min	Análise imediata	Perda de parâmetros, Área de avaliação restrita
Profilometria mecânica	método moderno utilizando réplicas	Resol. 0,1 µm Dist. 800 µm CV 0,5%	M - 8 min S - 24 horas	Alta precisão e reprodutibilidade, quantificação de parâmetros. Imagem em três dimensões,	Tempo de secagem longo de 24 horas
Profilometria a laser	Reflexão do laser, análise do movimento das lentes	Resol. 0,1 µm Dist. 1,0 mm CV ~0	M - 10-30 min S - 1-3 min	função matemática complexa	Alto custo, susceptível a erro das medidas
Profilometria por transparência	Medida por transparência através de uma réplica estreita	Resol. 1,6 µm Dist. 500 µm CV 1,56%	M - 1 min S - 10 min	Medida e análise rápidas, fácil manuseio	Cópia fina e frágil, vários passos para o processo de produção da réplica susceptíveis a erros

M = medida; S = secagem; CV% = Coeficiente de variação

1.3 Profilometria óptica

A profilometria óptica consiste na realização de uma réplica da superfície cutânea usando uma placa de silicone.^{21, 30}

O silicone é aplicado sobre a pele como uma massa elástica e viscosa que permite, antes do seu endurecimento, a reprodução do relevo cutâneo com os sulcos e rugas sem a formação de bolhas.²¹

Após esse primeiro passo, é adicionado um catalisador, que, em alguns minutos, provoca a polimerização do gel de silicone produzindo uma massa sólida com a impressão negativa da pele a ser avaliada. A partir do emprego de um perfilômetro óptico, um tipo de *scanner* que usa a incidência de luz sobre a placa de silicone, são formados reflexos variados que representam as diferentes profundidades e ângulos formados pelos sulcos da pele.^{21, 27, 30}

A digitalização desse relevo permite, por técnicas de análise de imagem, a quantificação objetiva da topografia superficial da pele avaliando a variabilidade das medidas dos picos e vales da superfície da pele em relação a um ponto central (Figura 1.3.1 e Quadro 1.3.1).^{21, 24, 30-33}

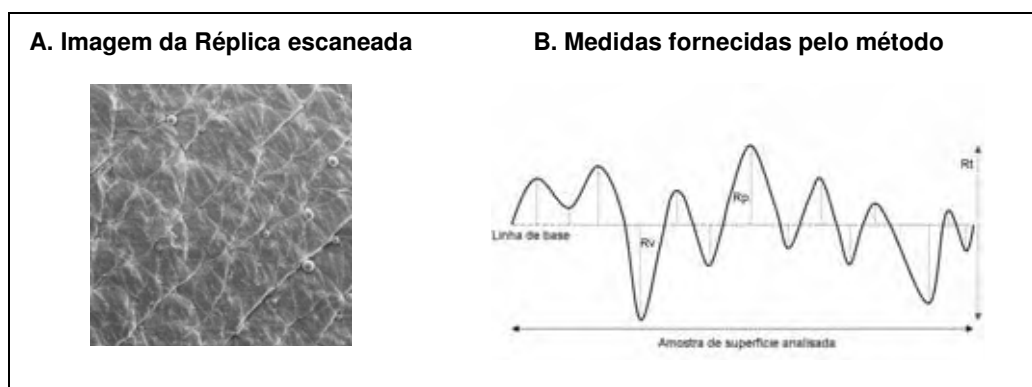


Figura 1.3.1. A. Réplica de silicone escaneada da superfície da pele demonstrando sulcos terciários e quaternários. B. Representação esquemática das principais medidas envolvidas na análise profilométrica.³³

Quadro 1.3.1. Medidas de rugosidade analisadas pela profilometria óptica e seu significado.

Ra	Média aritmética dos desvios da base
Rq	Raiz quadrada dos quadrados dos desvios da base
Rku	Curtose das medidas
Rsk	Simetria das medidas em relação à base
Rv	Profundidade do sulco mais intenso
Rp	Altura da maior proeminência
Rt	Amplitude total do sistema ($Rv+Rp$)

Entre as críticas a esse método, são citadas o custo significativo, a curta distância de análise, a interferência comum de artefatos (bolhas, poeira e pêlos tipo *vellus*), a grande variabilidade de leitura de acordo com o executor do método e a interferência da pressão aplicada pelo silicone sobre a pele no resultado numérico final.^{21, 23, 27, 31}

1.4 Profilometria mecânica

A profilometria mecânica é considerada um método padrão para a análise de superfícies metálicas e de minerais, desde 1959 vem sendo empregada na avaliação do relevo cutâneo. É um método de medida bidimensional da altura e profundidade dos sulcos e rugas, resultando em imagem final tridimensional.³⁴

Uma réplica da superfície cutânea produzida na placa de silicone é fixa em uma mesa e submetida à leitura. Um *probe*, formado por um fino diamante, se desloca horizontalmente na placa, sempre perpendicular às linhas, a uma velocidade constante (1 mm/s). Durante a leitura, realiza movimentos verticais de acordo com o relevo analisado. Este deslocamento (sobe/desce) produz impulsos elétricos que serão convertidos em sinais digitais no computador com resolução 0,1 μm .^{17, 35}

A profilometria mecânica é método de alta precisão e reprodutibilidade, entretanto, devido à baixa velocidade de leitura e tempo de secagem da réplica,

torna-se um método lento para aplicação em escala.

1.5 Profilometria a laser

A profilometria a laser é um método baseado na amplificação e reflexão da luz sobre uma réplica da pele. É utilizado um laser de diodo com um comprimento de onda de 720 nm.³⁵

Pode ser realizada por três técnicas diferentes: foco dinâmico, em que o laser é focado no objeto de acordo com a altura do mesmo, ou por dois outros métodos baseados na teoria da triangulação que utilizam um ou dois prismas para correção e identificação das diferentes alturas do relevo. Este mapeamento é realizado sobre uma mesa que se desloca sobre o eixo X e Y permitindo uma avaliação tridimensional da superfície.³⁶

A representação tridimensional dessas amplitudes e freqüências é descrita sob um espectro, onde estruturas com ondas curtas e altas freqüências são representadas na periferia e estruturas com ondas longas e baixa freqüência no centro do espectro, com isso o relevo da pele (réplica) não será estudado por parâmetros de aspereza e sim por critérios de regularidade e avaliação da desordem (funções matemáticas complexas).^{22, 33, 37}

A leitura a laser diminui a influência dos artefatos e deformações provocadas pelo contato direto com a réplica da pele, tornando-se um método com melhor resolução, porém, ainda se trata de procedimento de alto custo.

1.6 Profilometria por transparência

A profilometria por transparência é um dos métodos mais recentes para avaliação do micro relevo cutâneo e é baseado na medida da variação da absorvância de luz.

A partir de um gel de silicone de baixa viscosidade e rápida secagem (10 minutos) uma réplica da superfície da pele é produzida, formando um filme transparente com espessura de 0,5 mm. Essa fina película será colocada entre uma máquina fotográfica (câmera CCD) e uma fonte de luz. As diferenças na absorvância serão captadas pela câmera e processadas em tons de cinza (256) de acordo com a profundidade dos sulcos que poderá variar de $1,6 \pm 0,4 \mu\text{m}$. Os sulcos mais profundos são representados por *pixels* mais escuros, que, em contraste com as áreas mais superficiais, mais claras, permitem uma segmentação das estruturas.³⁵

A fina espessura da réplica diminui a chance de formação de bolhas e o tempo de secagem proporciona um método mais rápido, no entanto é muito frágil o que dificulta sua manipulação e aumenta o risco de perda de material.

Outros métodos, como a profilometria por capacitância da pele e a interferometria a laser têm despertado o interesse dos pesquisadores por suplantarem algumas críticas dos métodos anteriores, como a reprodutibilidade, a não invasividade, avaliação de maiores áreas e a independência da formação de réplicas.^{23, 30, 32, 38, 39}

Outro elemento que se tem identificado como promissor é a medida de parâmetros de desordem (anisotropia) da superfície documentada, que se correlaciona fortemente com o envelhecimento etário da pele.^{22, 28, 36, 37}

Nesse ínterim, a pesquisa da quantificação microscópica do relevo cutâneo

mostra-se como uma profícua área de interesse científico na dermatologia.

1.7 Fotografia digital e análise de imagem digital

Fotografar vem do grego: “escrever com a luz”, e significa de forma prática a representação bidimensional de um fenômeno visível, configurando uma imagem de dimensões finitas.^{40, 41}

A fotografia digital é formada pela transformação de diferentes intensidades de luz, em sinais digitalizados, registrados por um sensor fotoeletrônico, e que, posteriormente, são armazenados em um arquivo de computador. Cada ponto luminoso captado denomina-se *pixel* (*picture element*), e o arranjo ordenado de *pixels* de diferentes intensidades de cor forma a imagem digital (Figura 1.7.1).^{40, 41}

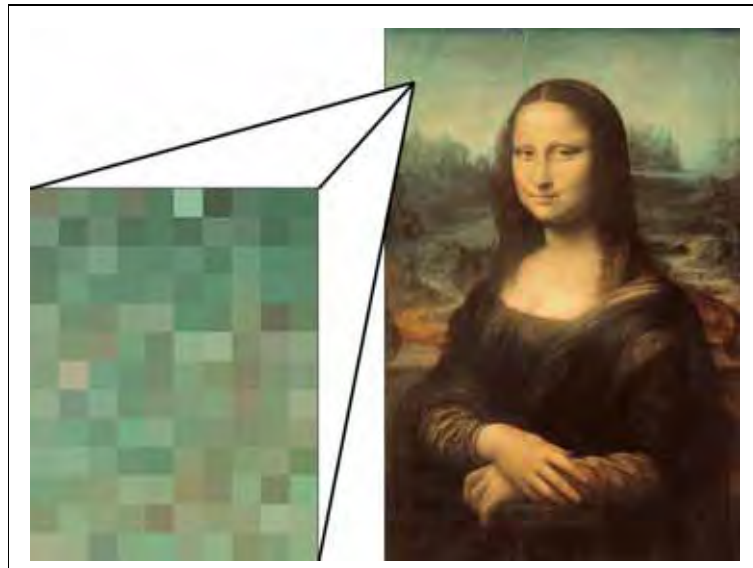


Figura 1.7.1. Exemplo de imagem digital com detalhe mostrando de forma ampliada a composição dos *pixels* cujo arranjo de cores forma a imagem.

* La Gioconda (Mona Lisa), Leonardo Da Vinci, 1503-1507. Imagem disponibilizada publicamente em: <http://www.artinvest2000.com/>

O termo “imagem” refere-se a uma função de intensidade de luz bi-dimensional $f(x,y)$, onde x e y são coordenadas espaciais e o valor de f em um ponto qualquer (x,y) é proporcional ao brilho ou nível de cinza da imagem naquele ponto. Uma imagem digital é uma imagem $f(x,y)$ discretizada no espaço e na intensidade de brilho e pode ser considerada uma matriz, cujos elementos são chamados de *pixels*.

O *pixel* é a estrutura elementar que forma a imagem digital e agrega um tamanho de referência de acordo com a dimensão da imagem real. Dessa forma, uma imagem que meça 1 mm e seja documentada por 1000 *pixels*, vai ser representada por 1 *pixel* por μm , da mesma maneira, essa relação pode ser maior ou menor de acordo com o número de *pixels* empregado na captura da imagem. Denomina-se “resolução” de uma fotografia digital a quantidade de *pixels* que a compõem, e maiores resoluções representam maior nível de detalhe.⁴¹⁻⁴³

Em uma fotografia digital cada *pixel* capturado se refere simultaneamente a uma intensidade de cor vermelha, verde e azul (sistema RGB – *Red, Green, Blue*), cuja combinação resulta em uma cor do espectro luminoso, variando do preto (ausência de cor) ao branco (máxima intensidade de cor R, G e B).⁴⁰⁻⁴²

A decomposição da imagem em canais elementares de cor é uma forma de salientar detalhes inerentes a cada canal, o que facilita a análise de elementos em uma fotografia digital (Figura 1.7.2).⁴⁴

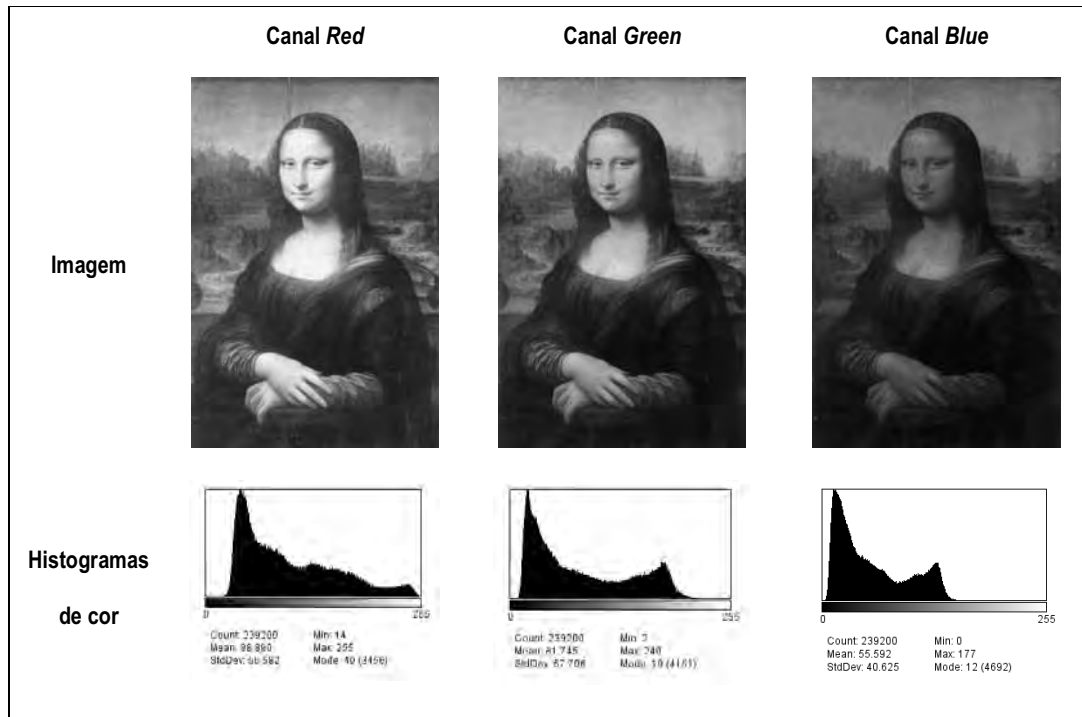


Figura 1.7.2. Exemplo de decomposição da imagem nos canais R, G e B, e os histogramas de distribuição das intensidades de cores dos *pixels* em cada canal.

Há diversos sistemas ou modos de cor que podem ser empregados na representação de *pixels* em uma imagem digital, como, por exemplo: *XYZ*, *HSB* (*Hue, Saturation, Bright*), *L*a*b*, entre outros, o que aumenta a flexibilidade de extração de informações representadas por diferentes sistemas de codificação de sinal (Figura 1.7.3).⁴⁴ Porém, o sistema RGB é o mais empregado em análise de imagem por padronização nos monitores eletrônicos e pela semelhança com a sensibilidade dos cones retinianos humanos que se impressionam com ondas luminosas de diferentes frequências, mas codificam sinais em tons de vermelho, verde e azul.^{45, 46}

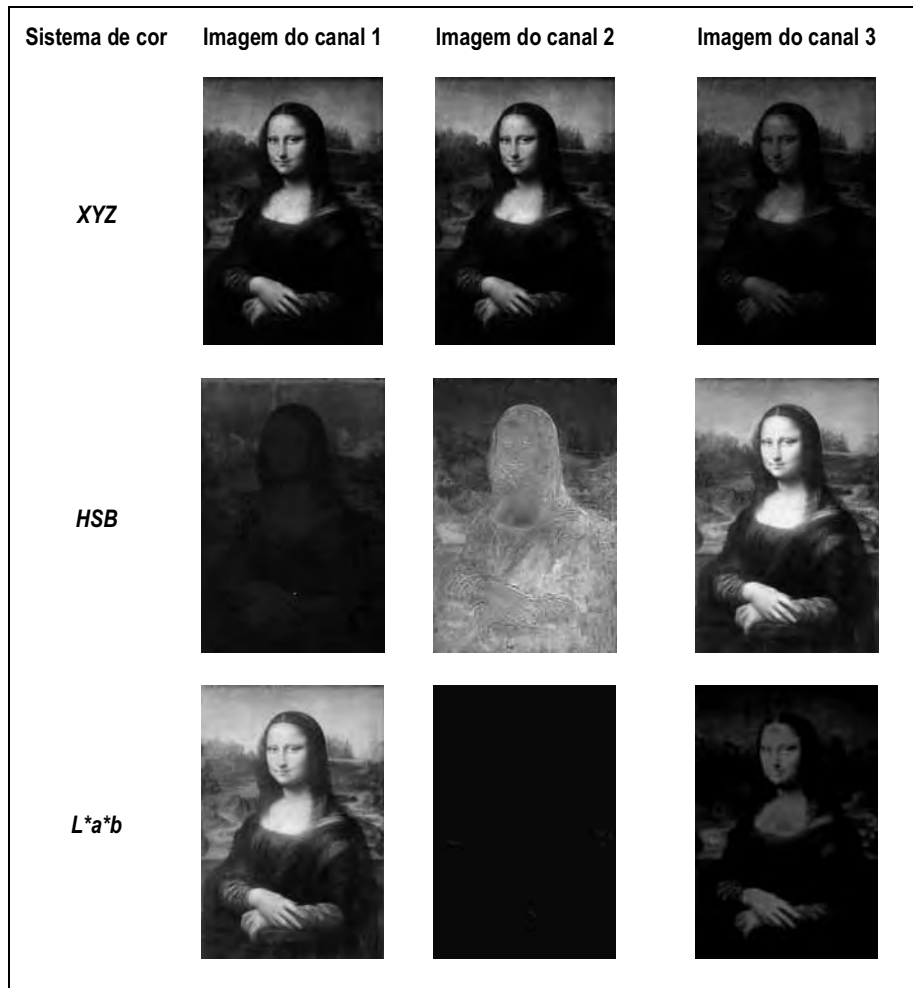


Figura 1.7.3. Sistemas suplementares de cor (*XYZ*, *HSB* e *L*a*b*) e imagens resultantes da decomposição nos seus canais.

O uso de um sistema RGB de 24 bits possibilita a composição de mais de 16,7 milhões de cores, o que supera a capacidade de discriminação do olho humano. Para fins de análise de imagens digitais, geralmente as cores são transformadas em tons de cinza (8 bits), que permitem uma gama de 256 intensidades, simplificando o processamento.⁴⁶

Análise de imagem digital é a extração de informação a partir de uma representação de *pixels*, para tanto, é necessário séries de processamentos a fim de reduzir o “ruído”, ou dados não-informativos, da imagem bruta.^{42, 47}

Como cada *pixel* registrado é codificado por uma localização precisa na

imagem fotográfica e uma intensidade de cor, essa representação permite a realização de mensurações como cálculos de distâncias, áreas, intensidades de cor e reconhecimento de determinados padrões nas imagens digitais que podem ser comparados posteriormente, desde que se mantenham parâmetros equivalentes predeterminados.^{42, 48}

As fases que compõem a análise digital estão dispostas no quadro 1.7.1.

Quadro 1.7.1. Discriminação das fases da análise digital.

Fase	Elementos envolvidos
Captura da imagem	Padronização do sistema óptico, resolução, ISO, iluminação, sistema de cores, distância focal, homogeneidade das amostras
Pré-processamento	Escolha do canal de cor, recorte das áreas de interesse, ajuste de contraste, brilho, gama, normalização e equalização dos histogramas de cor
Processamento	Aplicação de filtros de imagem, operação entre parâmetros numéricos das imagens, transformação de imagens
Segmentação	Aplicação de algoritmos que dividam os <i>pixels</i> da imagem processada em grupos com homologia semântica ou categórica
Análise	Extração de parâmetros numéricos das imagens processadas e segmentadas

Em sistemas fotográficos digitais, o reconhecimento de padrões de textura, porosidade e de rugas da pele pode ser representado em função da intensidade dos *pixels* e do seu arranjo, formando estruturas.⁴⁹ Essas análises fotográficas são largamente empregadas em dermatologia, principalmente na avaliação qualitativa de tratamentos.

Há sistemas controlados bem estabelecidos em que a imagem digital é usada como instrumento de mensuração. No exame ultrassonográfico, por exemplo, é possível avaliar distâncias, dimensões e densidades de certas estruturas, com importante aplicação clínica.

1.7.1 Representação da imagem no domínio do espaço e da frequência

As imagens digitais podem ser representadas graficamente de acordo com características de distribuição das tonalidades dos *pixels* dispostos espacialmente na fotografia. Dessa forma, a representação cumulativa desses *pixels* semelhantes se denomina histograma de *pixels* e permite a extração de informações quantitativas referentes a essas frequências acumuladas.

Observa-se na Figura 1.7.1.1 um pico de *pixels* deslocado para as intensidades mais escuras, representando as tonalidades da paisagem e do vestuário, que dominam a imagem, e um pico de *pixels* mais claros que representa a pele da Gioconda.

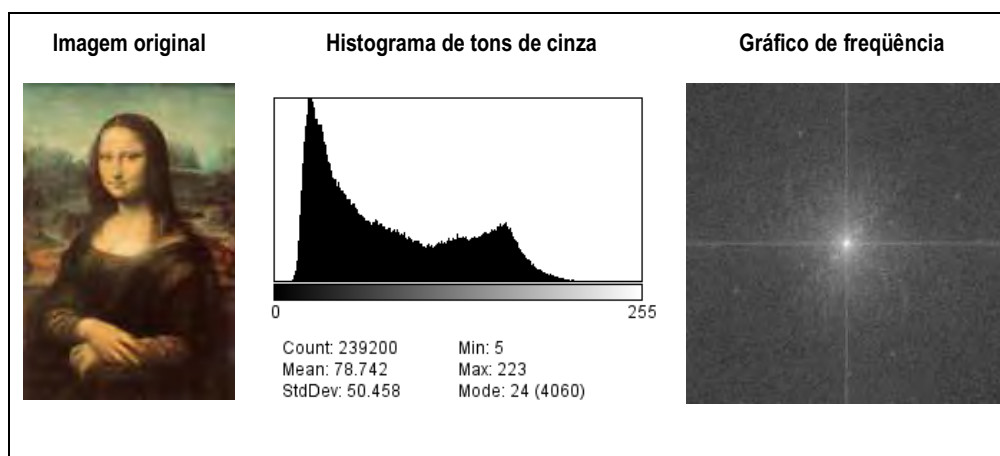


Figura 1.7.1.1. Exemplo da representação da imagem no domínio do espaço (histograma de tons de cinza) e no domínio da frequência (FFT).

Os histogramas fornecem elementos que permitem análise de parâmetros em fotografia, por exemplo, sua média (ou mediana) estima a luminosidade média da imagem, que pode ser um elemento de comparação, em fotografias padronizadas, da reflectância da pele.

Seu desvio padrão (ou desvio interquartilico), representa um importante

indicador da desordem dos *pixels*, estimando a possibilidade de extração de informação da imagem. Imagens diferentes, com histogramas diferentes podem ser comparadas quanto à desordem dos *pixels* pelo coeficiente de variação (CV%).

Histogramas multimodais, como o da Gioconda, indicam a possibilidade de segmentação de grupos de *pixels* semelhantes (tonalidades), que devem se relacionar a uma interpretação semântica específica, o que se revela muito útil em pesquisa.

As imagens digitais podem ser representadas não somente pelo agrupamento de *pixels* de intensidades semelhantes de cor (histograma), mas pela forma que ocorre a transição das tonalidades de *pixels* adjacentes. Esse aspecto se denomina representação no domínio da frequência, e uma de suas modalidades de cálculo é a transformada rápida de Fourier (FFT), permitindo a percepção das frequências mais prevalentes na imagem.³⁷

Define-se uma transição de alta frequência quando um grupo de *pixels* se dispõe próximo a outros com grande diferença de intensidade de cor, típico nas imagens com grandes contrastes (p.ex. pinturas surrealistas de Miró). Por outro lado, as transições de baixa frequência ocorrem quando os *pixels* apresentam pouco contraste entre si nas imagens, como ocorre em quadros renascentistas (p.ex. Mona Lisa).

Observa-se na Figura 1.7.1.1 que o gráfico de frequências evidencia grande parte dos *pixels* distribuídos ao redor do centro, sugerindo que a informação da imagem se situa na faixa de baixas frequências, ou seja, há pouco contraste nas transições da imagem, por outro lado, verificam-se vários pontos isolados distanciados do centro do gráfico, o que representa áreas de informação situados nos domínios de maior frequência.

A análise cuidadosa do histograma de *pixels* (em diferentes níveis de cor) e do gráfico de frequência permite a elaboração de estratégias de filtragem para extração de informações da imagem.^{42, 50}

Modificações no histograma de cores alteraram simultaneamente o comportamento de todos os *pixels* (Figura 1.7.1.2), por exemplo, ações no brilho, “somam” valores a todos os *pixels* do histograma, deslocando-o em bloco para a direita (mais brilho), ou para a esquerda (menos brilho).⁴²

Ações no contraste “alteram a distância” entre os valores de cor dos *pixels*, afastando-os (aumento do contraste), ou aproximando-os (redução no contraste). A equalização gera um espaçamento dos tons de cores, de modo a compreender todo o espectro disponível, promovendo uma transformação virtual do referencial de cores da imagem.⁴²

Alterações do gama desequilibram a proporção original de tons claros e escuros na imagem, aumentando a ocorrência de *pixels* escuros (redução do gama) ou de *pixels* claros (aumento do gama).

Todas essas operações são empregadas no preparo das imagens digitais para a análise quantitativa.⁴²

A ordem das operações consecutivas no histograma pode interferir no resultado final da análise, em exemplo, o resultado do aumento do brilho, seguido do aumento do contraste pode ser diferente do aumento do contraste seguido do aumento do brilho. Isso é mais evidente nas tonalidades extremas (*pixels* mais claros e mais escuros), o que torna o processamento de imagens digitais um ofício dependente de múltiplas variáveis, e da ordem das operações.

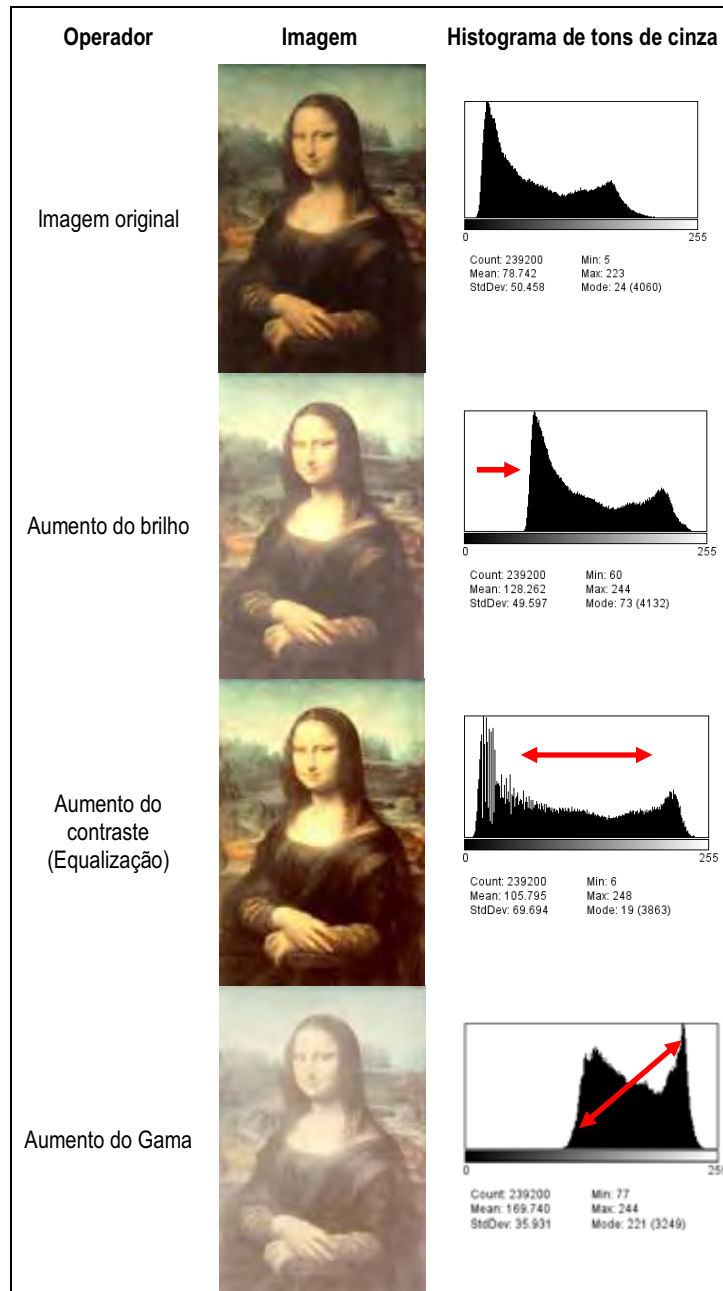


Figura 1.7.1.2. Exemplo de operadores do histograma.

Uma das operações de pré-processamento mais simples e funcionais é a identificação, em canais de cor, de tonalidades discrepantes que representem a região de interesse da imagem, ou uma estrutura com reconhecida importância semântica. A filtragem de cor separa na imagem, *pixels* com tonalidades claras ou

escuras, ou ainda, tons intermediários (Figura 1.7.1.3).

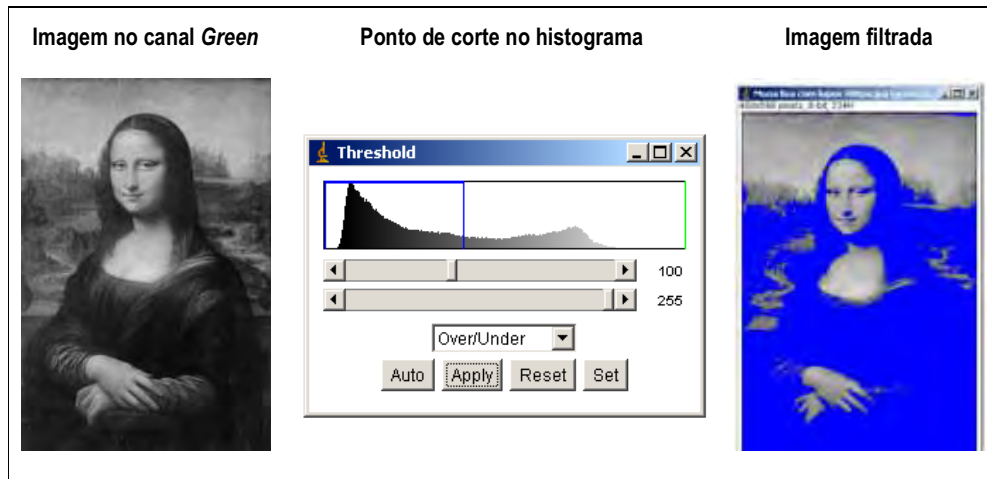


Figura 1.7.1.3. Exemplo da imagem (canal Green) filtrada para *pixels* maiores que 100 (threshold).

A filtragem por frequência opera alterando a relação de transição de grupos de *pixels* entre si e é muito usada no pré-processamento de imagens para a extração de padrões. Entre muitos exemplos de filtros de frequência, destacam-se os filtros de mediana, média, máximo, mínimo, variância (Figura 1.7.1.4), Fourier, Haar, e os filtros passa-banda (Figura 1.7.1.5), que permitem a expressão (passagem) de grupos de *pixels* com padrões de transição entre si, dentro de regiões e direções pré-definidas.

Filtros de passa-baixa permitem a expressão de *pixels* cuja transição entre si é de baixa frequência, e menor contraste. Já filtros de passa-alta permitem a exibição de grupos de *pixels* que apresentem alta frequência de transição entre si, destacando os grandes contrastes da imagem. Filtros estatísticos, como o de mediana, ou o de variância, transformam os *pixels*, de uma região determinada, de acordo com as características das distribuições das intensidades prévias na mesma região.⁴²



Figura 1.7.1.4. Exemplo da imagem filtrada de acordo com a mediana, valores mínimos e variância dos valores dos *pixels* das regiões definidas.

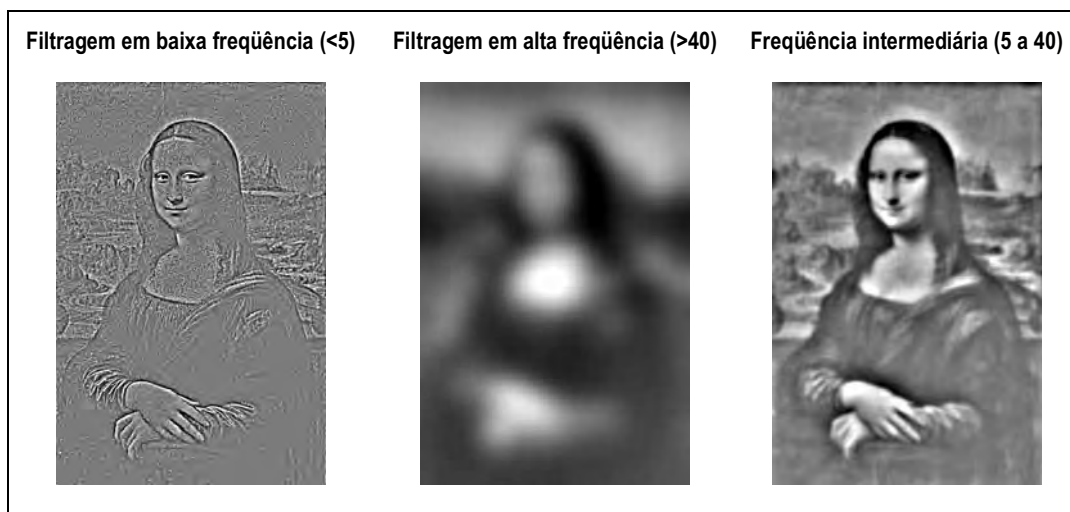


Figura 1.7.1.5. Exemplo da imagem (canal *Green*) filtrada para transição de *pixels* em diferentes frequências.

Há indícios que o sistema visual humano utilize processamento semelhante no reconhecimento de padrões visuais.⁴²

A ordem das operações consecutivas de filtrações e a definição dos parâmetros e regiões dos filtros interferem notavelmente no resultado final da análise, configurando a importância de projetos cuidadosos de validação de técnicas de processamento de imagens digitais no estudo de um fenômeno.

As filtragens de cor, de frequência, operações do histograma e operações entre as imagens constituem os elementos mais empregados no pré-processamento de imagens digitais, e cooperam no destaque das áreas de interesse para a separação, destaque e segmentação da imagem.

A segmentação é o elemento final de redução do “ruído”, onde se separa apenas os *pixels* pertencentes às estruturas desejadas. Da mesma forma, há diversos algoritmos de segmentação, como o Otsu, Máxima entropia, IsoData e modelos mistos, que geram resultados diferentes de seleção e necessitam de adequado estudo para escolha do método mais apropriado às propostas de cada projeto.

Operadores morfológicos como erosão, dilatação, preenchimento de aberturas, fechamento e abertura da imagem são empregados no refinamento do processo de segmentação, superam o escopo dessa revisão e não serão abordados nesse texto. Entretanto, uma vez que a imagem esteja adequadamente segmentada e binarizada (representada apenas por *pixels* brancos e pretos), sua estrutura espacial pode ser esqueletonizada, ou seja, representada espacialmente por vetores ou eixos que compõem a imagem (Figura 1.7.1.6).

Esqueletonização é então uma representação da ocupação do espaço e da irregularidade das formas, e permite a avaliação de índices de complexidade como a simetria, lacunaridade e a dimensão fractal, esta última interessa a esse estudo, e será discutida adiante.⁴⁹



Figura 1.7.1.6. Exemplo da imagem processada, segmentada e esqueletonizada.

1.7.2 Medidas de complexidade da imagem

A complexidade, caos ou desordem de uma imagem digital diz respeito à heterogeneidade da distribuição dos *pixels* em duas dimensões. Um quadrado completamente monocromático apresenta *pixels* semelhantes distribuídos de forma ordenada, como se armazenassem energia derivada dessa organização. Por outro lado, uma imagem do tipo “sal e pimenta” apresenta *pixels* de várias intensidades, distribuídos de forma caótica, o que exprime pouca energia de organização.

Uma das formas mais simples de estimar a complexidade da distribuição dos *pixels* de uma imagem é a medida do desvio padrão do seu histograma. Pois, tendo em vista, que imagens semelhantes têm histogramas semelhantes, um elemento que pode ser utilizado na diferenciação da ordem dos *pixels* é o grau de espalhamento das suas medidas (Figura 1.7.2.1).

Como o desvio padrão do histograma pode sofrer interferência da luminosidade média (ponto médio do histograma) da imagem, em alguns casos,

pode-se necessitar a equalização da imagem, ou a indexação do desvio padrão pelo coeficiente de variação do histograma.

Outra variedade de análise de complexidade ocorre em certas imagens heterogêneas após processamento e binarização (transformação em dois grupos de *pixels*: brancos e pretos), e a formação de objetos decorrentes da segmentação. A fração de área ocupada pelos objetos binarizados pode ser utilizada na comparação com imagens semelhantes, indicando complexidade.

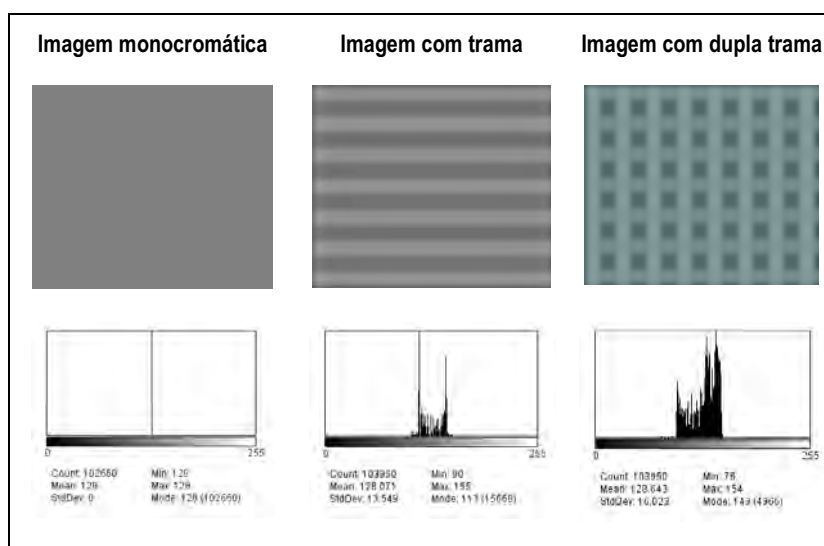


Figura 1.7.2.1. Exemplo de imagens com diferentes níveis de complexidade (representada pelos desvios padrão), mesmo número de *pixels* e mesma luminância média no histograma.

As medidas texturais de rugosidade (*Roughness*) empregadas nas análises profilométricas podem ser transpostas para a análise de imagens, já que, em representação fotográfica digital, *pixels* mais escuros são observados nos sulcos, e os mais claros são vistos nas plataformas da pele. Como seus valores são conhecidos, as intensidades dos *pixels* são comparáveis às profundidades relativas das linhas, e, dessa forma, permitem a estimativa de *Ra*, *Rq*, *Rsk*, *Rku*, *Rv*, *Rp* e *Rt*.^{30, 51, 52}

Em 1975, o matemático francês Benoît Mandelbrot, estudando propriedades geométricas não-Euclidianas, descreveu uma função geométrica cujas partes reproduziam as propriedades do todo, de forma repetitiva, independentemente da escala de observação utilizada, chamando-a Fractal. Posteriormente, a teoria foi aplicada na mensuração de áreas de objetos complexos e na descrição de fenômenos naturais.⁴⁹

A matemática fractal permite a quantificação do grau de desordem de um sistema em função da complexidade de como o espaço é ocupado. O índice mais utilizado nessa avaliação é a *Dimensão fractal*, sendo descritos vários métodos de cálculo. Ainda, lacunaridade e simetria são empregadas na descrição de fractais, mas seu estudo ultrapassa o escopo desse texto.^{49, 53, 54}

Um dos algoritmos de cálculo da *Dimensão fractal* mais empregado é o *box count*, em que se calcula o número de caixas formadas por números de *pixels* diferentes necessárias para conter todos os elementos de uma figura esqueletonizada. O método se implementa sobrepondo a imagem em uma malha de quadrados, contando quantos são necessários para cobrir toda a figura. Esse cálculo é executado para diferentes tamanhos de caixas na malha.^{53, 55, 56} Quanto maior o número de caixas necessários para cobrir toda a figura, maior é a dimensão fractal, expressa pela fórmula:

$$D_f = - \lim_{(r \rightarrow 0)} \ln (\sum (N r_i) / \sum \ln(r_i))$$

Onde D_f é a *Dimensão fractal*, r é o número de análises realizadas para diferentes tamanhos de caixas, Nr é o resultado do número de caixas em cada tentativa.⁵⁶

O índice pode ser visualizado a partir de um gráfico logarítmico (Figura 1.7.2.2).

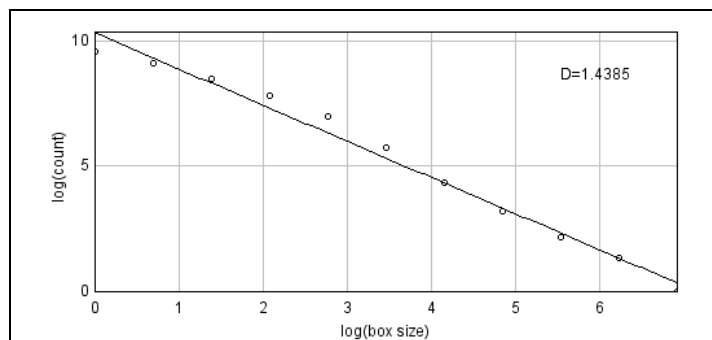


Figura 1.7.2.2. Exemplo de gráfico logarítmico comparando as contagens do número de caixas, de acordo com o tamanho das caixas, cuja relação determina a *Dimensão Fractal*.

Textura se refere a uma qualidade de percepção táctil que refere rugosidade, aspereza, maciez ou lisura, entretanto, pode ser utilizada na análise de imagens digitais, como índice de medida de complexidade. O algoritmo mais empregado para descrever textura de imagem é o *GLCM (Gray level co-occurrence matrix)*, que se compõe de diferentes índices: *Entropia*, *Segundo momento angular*, *Correlação*, *Contraste e Diferença do momento inverso*.^{26, 51, 57, 58}

A medida de cada índice do *GLCM* deriva de cálculos referentes à heterogeneidade dos *pixels* em relação a seus vizinhos. Quando se investiga elementos relacionados ao comportamento de grupos de *pixels* contíguos, ao invés de analisar os valores dos *pixels* individualmente, realizam-se operações chamadas de análise de segunda ordem.^{42, 57, 58}

De forma geral, para proceder à análise do *GLCM*, define-se previamente a distância (em *pixels*) para se fazer as comparações de semelhança (Figura 1.7.2.3).^{58, 59}

	A. Imagem com textura homogênea			B. Imagem com textura heterogênea		
Representação numérica das intensidades de cor	30	30	40	255	51	40
	30	40	30	51	40	51
	40	30	30	0	255	30
Entropia	Menor			Maior		
Contraste	Menor			Maior		
Segundo momento angular	Maior			Menor		
Correlação	Maior			Menor		
Diferença do momento inverso	Menor			Maior		

Figura 1.7.2.3. Exemplo de relação entre os *pixels* (distância de 1 *pixel*) avaliado pelos índices do *GLCM*. (A) Grande semelhança entre as intensidades de cor, gerando índices baixos. (B) Heterogeneidade na distribuição das intensidades de cor, gerando diferentes índices de *GLCM*.

A existência de vários índices matemáticos de complexidade de imagem evidencia a necessidade de validação e escolha do algoritmo mais adequado para a extração da informação desejada de cada imagem.

1.8 Dermatoscopia

A microscopia de superfície, também denominada de dermatoscopia, é empregada classicamente na classificação e avaliação de malignidade de lesões pigmentadas *in vivo*, e vem se tornando uma subespecialidade dermatológica com grande potencial investigativo em outras dermatoses.^{53, 60, 61}

Dermatoscopia utiliza iluminação própria e um sistema óptico que amplia de 10 a mais de 40 vezes (sistemas digitais) a lesão estudada.

Há duas modalidades básicas de dermatoscopia, a de contato, onde se emprega uma interface líquida (óleo ou álcool) para impedir a reflexão da luz na camada córnea, e a dermatoscopia de luz polarizada, em que o uso de um filtro polarizador impede a passagem da luz refletida nas camadas superficiais da

epiderme.^{60, 62-65}

Atualmente, é possível acoplar um dermatoscópio a câmeras digitais compactas, proporcionando um sistema de análise microscópica de baixo custo. Por outro lado, sistemas especialistas dedicados (exclusivamente desenvolvidos para os aparelhos) de dermatoscopia digital conectados a bancos de dados para imagens já são comercializados e oferecem desempenho satisfatório na estimativa do risco da malignidade de lesões pigmentadas.^{64, 66-70}

1.9 Avaliação da microtopografia da pele usando fotografia digital

A análise da superfície da pele empregando a microscopia de superfície, com controle rigoroso da distância, da iluminação e da topografia analisada, permite a avaliação de vários elementos da pele, entre eles, o micro relevo da sua superfície.⁶⁹

Registrada como fotografia digital, os *pixels* mais escuros referem-se a áreas mais profundas (sulcos) e os mais claros às regiões mais próximas da lente (picos), o que permite uma parametrização, discretizada em 256 tons de cor, dos sinais para análise da superfície fotografada.⁵¹

Dessa forma, a quantificação das estruturas microscópicas que formam a topografia cutânea pode ser estimada a partir das teorias já desenvolvidas pelas técnicas clássicas de profilometria e aplicadas na interpretação dos padrões de *pixels* capturados pela microscopia de superfície.^{30, 47, 54, 71}

A validação de métodos não invasivos que avaliem quantitativamente a superfície da pele tem sido objetivo de pesquisa há muitos anos e várias propostas de diferentes métodos são apresentadas rotineiramente. Na maioria das vezes tenta-se relacionar a estrutura superficial da pele com idade e sexo e seu comportamento conforme a evolução, utilizando-se de diferentes medidas como

anisotropia, quantificação do número e tamanho de polígonos formados pelo quadriculado, orientação e direção dos sulcos, contudo, devido à grande variabilidade estrutural e metodológica ainda há dificuldade na padronização dos métodos.^{5, 12, 51, 72}

Para minimizar esses problemas, deve-se realizar um procedimento padronizado em que as variáveis sejam conhecidas e controladas com o intuito de que o sistema sofra o mínimo possível de variação e possa ser executado e reproduzido com coerência nos achados, por qualquer pesquisador em qualquer local.

Métodos *in vivo* que utilizam iluminação artificial possibilitam uma completa documentação de vales e picos, e podem-se estabelecer parâmetros de medida da mesma área do tegumento. Por outro lado, métodos fotográficos são extremamente sensíveis a movimentação do paciente, focagem e movimento de pulsação.

Diversos trabalhos apresentam a busca por um método ideal com melhor reprodutibilidade e sensibilidade para avaliação da topografia superficial utilizando-se dos mais variados processos, como Lagarde e colaboradores que avaliaram a anisotropia (densidade dos sulcos de acordo com profundidade e orientação) para comparar as rugas temporais e nos antebraços em relação ao sexo e idade dos pacientes, entretanto, tratou-se de avaliação complexa, não separando micro de macro topografia e que encontrou certa dificuldade em relacionar sexo e idade.²²

A interferência da luminosidade externa é um dos fatores que podem influenciar na captura das imagens, na validação de um método de análise da topografia da pele.⁵¹ Em outro estudo de Lagarde e colaboradores, foi encontrada uma pequena variação nos dados obtidos de acordo com a mudança da intensidade luminosa no ambiente, sendo necessária padronização da luz a fim de que se

evitasse a calibração do aparelho após cada captura. Neste estudo não se utilizou sistema fechado para captação das imagens.

Métodos ópticos devem ser rigorosamente padronizados para não sofrerem efeitos da luz externa ao sistema de medição, assim como alterações da cor da superfície avaliada. Alterações lineares, como pêlos, são interpretadas pelo sistema como linhas primárias dispostas na imagem. Alterações maculares, como lentigos, vitiligo ou leucodermia solar são interpretadas como descontinuidades das linhas, e gerando novas estruturas ópticas de difícil interpretação.

Da mesma forma, a homogeneidade e direcionamento da iluminação promovem diferentes efeitos na leitura das imagens. Iluminações anguladas podem salientar a intensidade de sulcos transversais e amenizar os paralelos à fonte luminosa.⁵¹

O desenvolvimento de um sistema quantitativo e eficiente de análise da topografia da superfície cutânea empregando a microscopia de superfície pode representar uma grande contribuição na avaliação não invasiva das alterações da pele saudável ou doente submetida a tratamentos (hidratantes, ácidos orgânicos), a exposições ambientais (radiação ultravioleta, tabagismo) ou profissionais (substâncias tóxicas, oxidativas, detergentes), contribuindo para a pesquisa dermatológica e cosmiátrica de qualidade ao redor do mundo.⁷³⁻⁷⁶

1.10 Referências Bibliográficas †

1. Sampaio SAP, Rivitti EA. *Dermatologia*. 3 ed. São Paulo: Artes Médicas; 2007. pp.1-37.
2. Sodré ST, Azulay RD, Azulay DR. Capítulo 1 A Pele – Estrutura, Fisiologia e Embriologia *In* Azulay RD, Azulay DR. *Dermatologia*. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 2004.pp. 1-14.
3. Lin JY, Fisher DE. Melanocyte biology and skin pigmentation. *Nature* 2007;445(7130):843-50.
4. Mosher DB, Fitzpatrick TB, Ortonne JP, Hori Y. Normal skin color and General Considerations of Pigmentary Disorders. *In*: Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolff K, Freedberg IM, Austen KF *Dermatology in General Medicine*. New York: Mcgraw-Hill; 1999:936-44.
5. Pierard GE, Uhoda I, Pierard-Franchimont C. From skin microrelief to wrinkles. An area ripe for investigation. *J Cosmet Dermatol* 2003;2(1):21-8.
6. Nicolaidou E, Antoniou C, Katsambas AD. Origin, clinical presentation, and diagnosis of facial hypermelanoses. *Dermatol Clin* 2007;25(3):321-6, viii.
7. Both H, Essink-Bot ML, Busschbach J, Nijsten T. Critical review of generic and dermatology-specific health-related quality of life instruments. *J Invest Dermatol* 2007;127(12):2726-39.
8. Kede MPV, Sabatovich O. *Dermatologia estética*. 1 ed. Rio de Janeiro: Atheneu; 2004.pp. 23-76.
9. Malick F, Howard J, Koo J. Understanding the psychology of the cosmetic patients. *Dermatol Ther* 2008;21(1):47-53.

† Referências em formato Vancouver segundo as recomendações do The New England Journal of Medicine, disponível em: <http://authors.nejm.org/Help/acHelp.asp>

10. Westerhof W. Evolutionary, biologic, and social aspects of skin color. *Dermatol Clin* 2007;25(3):293-302, vii.
11. Aoki K. Sexual selection as a cause of human skin colour variation: Darwin's hypothesis revisited. *Ann Hum Biol* 2002;29(6):589-608.
12. Voros E, Robert C, Robert AM. Comparative study of rheological and surface pattern parameters of human skin as a function of age, work conditions and sun exposure. *Arch Gerontol Geriatr* 1993;17(2):131-42.
13. Seddon JM, Egan KM, Zhang Y, et al. Evaluation of skin microtopography as a measure of ultraviolet exposure. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992;33(6):1903-8.
14. Linde YW, Bengtsson A, Loden M. 'Dry' skin in atopic dermatitis. II. A surface profilometry study. *Acta Derm Venereol* 1989;69(4):315-9.
15. Sato J, Yanai M, Hirao T, Denda M. Water content and thickness of the stratum corneum contribute to skin surface morphology. *Arch Dermatol Res* 2000;292(8):412-7.
16. Egawa M, Oguri M, Kuwahara T, Takahashi M. Effect of exposure of human skin to a dry environment. *Skin Res Technol* 2002;8(4):212-8.
17. Leveque JL. EEMCO guidance for the assessment of skin topography. The European Expert Group on Efficacy Measurement of Cosmetics and other Topical Products. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 1999;12(2):103-14.
18. Eberlein-Konig B, Schafer T, Huss-Marp J, et al. Skin surface pH, stratum corneum hydration, trans-epidermal water loss and skin roughness related to atopic eczema and skin dryness in a population of primary school children. *Acta Derm Venereol* 2000;80(3):188-91.
19. Greksa LP. Comparison of skin reflectances between Bolivian lowlanders and highlanders of European ancestry. *Hum Biol* 1998;70(5):889-900.

20. Moore LG. Human genetic adaptation to high altitude. *High Alt Med Biol* 2001;2(2):257-79.
21. Marks R, Edwards C. The measurement of photodamage. *Br J Dermatol* 1992;127 Suppl 41:7-13.
22. Lagarde JM, Rouvrais C, Black D. Topography and anisotropy of the skin surface with ageing. *Skin Res Technol* 2005;11(2):110-9.
23. Lagarde JM, Rouvrais C, Black D, Diridollou S, Gall Y. Skin topography measurement by interference fringe projection: a technical validation. *Skin Res Technol* 2001;7(2):112-21.
24. Creidi P, Vienne MP, Ochonisky S, et al. Profilometric evaluation of photodamage after topical retinaldehyde and retinoic acid treatment. *J Am Acad Dermatol* 1998;39(6):960-5.
25. Li L, Mac-Mary S, Marsaut D, et al. Age-related changes in skin topography and microcirculation. *Arch Dermatol Res* 2006;297(9):412-6.
26. Quilliam TA. The surface texture of human skin. *J Audiov Media Med* 1978;1(1):25-7.
27. Bader W, Bohmer S, Otto WR, Degenhardt F, Schneider J. [Texture analysis: a new method for evaluating ultrasound imaged lesions of the breast]. *Bildgebung* 1994;61(4):284-90.
28. Battistutta D, Pandeya N, Strutton GM, Fourtanier A, Tison S, Green AC. Skin surface topography grading is a valid measure of skin photoaging. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2006;22(1):39-45.
29. Friedman PM, Skover GR, Payonk G, Kauvar AN, Geronemus RG. 3D in-vivo optical skin imaging for topographical quantitative assessment of non-ablative laser technology. *Dermatol Surg* 2002;28(3):199-204.

30. De Paepe K, Lagarde JM, Gall Y, Roseeuw D, Rogiers V. Microrelief of the skin using a light transmission method. *Arch Dermatol Res* 2000;292(10):500-10.
31. Murphy R, Cotton DW, Wright AL, Bleehen SS. Computer-assisted image analysis of skin surface replicas. *Br J Dermatol* 1991;124(6):571-5.
32. Nardin P, Nita D, Mignot J. Automation of a series of cutaneous topography measurements from silicon rubber replicas. *Skin Res Technol* 2002;8(2):112-7.
33. Bashaiwoldu AB, Podczeczek F, Newton JM. The application of non-contact laser profilometry to the determination of permanent structural changes induced by compaction of pellets. I. Pellets of different composition. *Eur J Pharm Sci* 2004;21(2-3):143-54.
34. Akazaki S, Imokawa G. Mechanical methods for evaluating skin surface architecture in relation to wrinkling. *J Dermatol Sci* 2001;27 Suppl 1:S5-10.
35. Fischer TW, Wigger-Alberti W, Elsner P. Direct and non-direct measurement techniques for analysis of skin surface topography. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 1999;12(1-2):1-11.
36. Levy JL, Trelles M, Servant JJ, Agopian L. Non-ablative skin remodeling: an 8-month clinical and 3D in vivo profilometric study with an 810 nm diode laser. *J Cosmet Laser Ther* 2004;6(1):11-5.
37. Auada MP, Adam RL, Leite NJ, et al. Texture analysis of the epidermis based on fast Fourier transformation in Sjogren-Larsson syndrome. *Anal Quant Cytol Histol* 2006;28(4):219-27.
38. Leveque JL, Xhaufaire-Uhoda E, Pierard GE. Skin capacitance imaging, a new technique for investigating the skin surface. *Eur J Dermatol* 2006;16(5):500-6.
39. Ryu JS, Park SG, Kwak TJ, et al. Improving lip wrinkles: lipstick-related image analysis. *Skin Res Technol* 2005;11(3):157-64.

40. Papier A, Peres MR, Bobrow M, Bhatia A. The digital imaging system and dermatology. *Int J Dermatol* 2000;39(8):561-75.
41. Miot HA, Paixão MP, Paschoal FM. Fundamentos da fotografia digital em Dermatologia. *An Bras Dermatol* 2006;81(2):174-80.
42. Oberholzer M, Ostreicher M, Christen H, Bruhlmann M. Methods in quantitative image analysis. *Histochem Cell Biol* 1996;105(5):333-55.
43. Tanaka M. Minimum requirements for digital images in dermatological publications. *Clin Exp Dermatol* 1999;24(5):427.
44. Chaikovsky A, Brown S, David LS, Balman A, Barzovski A. Color separation of signature and stamp inks to facilitate handwriting examination. *J Forensic Sci* 2003;48(6):1396-405.
45. Tachakra S. Colour perception in telemedicine. *J Telemed Telecare* 1999;5(4):211-9.
46. Guyton AC. *Tratado de fisiologia médica*. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 1992. pp. 470-501.
47. Sanders JE, Goldstein BS, Leotta DF, Richards KA. Image processing techniques for quantitative analysis of skin structures. *Comput Methods Programs Biomed* 1999;59(3):167-80.
48. Aydin F, Senturk N, Sahin B, Bek Y, Yuksel EP, Turanli AY. A practical method for the estimation of vitiligo surface area: a comparison between the point counting and digital planimetry techniques. *Eur J Dermatol* 2007;17(1):30-2.
49. Smith TG, Jr., Lange GD, Marks WB. Fractal methods and results in cellular morphology--dimensions, lacunarity and multifractals. *J Neurosci Methods* 1996;69(2):123-36.

50. Wolf DE, Samarasekera C, Swedlow JR. Quantitative analysis of digital microscope images. *Methods Cell Biol* 2007;81:365-96.
51. Fiedler M, Meier WD, Hoppe U. Texture analysis of the surface of the human skin. *Skin Pharmacol* 1995;8(5):252-65.
52. Makki S, Barbenel JC, Agache P. A quantitative method for the assessment of the microtopography of human skin. *Acta Derm Venereol* 1979;59(4):285-91.
53. Manousaki AG, Manios AG, Tsompanaki EI, Tosca AD. Use of color texture in determining the nature of melanocytic skin lesions--a qualitative and quantitative approach. *Comput Biol Med* 2006;36(4):419-27.
54. Chappard D, Degasne I, Hure G, Legrand E, Audran M, Basle MF. Image analysis measurements of roughness by texture and fractal analysis correlate with contact profilometry. *Biomaterials* 2003;24(8):1399-407.
55. Handels H, Ross T, Kreuzsch J, Wolff HH, Poppl SJ. Computer-supported diagnosis of melanoma in profilometry. *Methods Inf Med* 1999;38(1):43-9.
56. Claridge E, Hall PN, Keefe M, Allen JP. Shape analysis for classification of malignant melanoma. *J Biomed Eng* 1992;14(3):229-34.
57. Tanaka H, Nakagami G, Sanada H, et al. Quantitative evaluation of elderly skin based on digital image analysis. *Skin Res Technol* 2008;14(2):192-200.
58. Valckx FM, Thijssen JM. Characterization of echographic image texture by cooccurrence matrix parameters. *Ultrasound Med Biol* 1997;23(4):559-71.
59. Lu RS, Tian GY, Gledhill D, Ward S. Grinding surface roughness measurement based on the co-occurrence matrix of speckle pattern texture. *Appl Opt* 2006;45(35):8839-47.
60. Stoltz W, Braun-Falco O, Bilek P, Landthaler M, Burgdorf W, Cagnetta AB. *Atlas Colorido de Dermatoscopia 2ed.* Rio de Janeiro; 2002.

61. Massone C, Di Stefani A, Soyer HP. Dermoscopy for skin cancer detection. *Curr Opin Oncol* 2005;17(2):147-53.
62. Andreassi L, Perotti R, Rubegni P, et al. Digital dermoscopy analysis for the differentiation of atypical nevi and early melanoma: a new quantitative semiology. *Arch Dermatol* 1999;135(12):1459-65.
63. Anderson RR. Polarized light examination and photography of the skin. *Arch Dermatol* 1991;127(7):1000-5.
64. Wollina U, Burrioni M, Torricelli R, et al. Digital dermoscopy in clinical practise: a three-centre analysis. *Skin Res Technol* 2007;13(2):133-42.
65. Grin CM, Friedman KP, Grant-Kels JM. Dermoscopy: a review. *Dermatol Clin* 2002;20(4):641-6, viii.
66. Fuller SR, Bowen GM, Tanner B, Florell SR, Grossman D. Digital dermoscopic monitoring of atypical nevi in patients at risk for melanoma. *Dermatol Surg* 2007;33(10):1198-206; discussion 205-6.
67. Nathansohn N, Orenstein A, Trau H, Liran A, Schachter J. Pigmented lesions clinic for early detection of melanoma: preliminary results. *Isr Med Assoc J* 2007;9(10):708-12.
68. Fleming MG. Digital dermoscopy. *Dermatol Clin* 2001;19(2):359-67, ix.
69. Ahn HH, Kim SN, Kye YC. Digital camera images obtained using a light-emitting diode illuminator and their dermatological applications. *Skin Res Technol* 2006;12(1):11-7.
70. Menzies SW, Bischof L, Talbot H, et al. The performance of SolarScan: an automated dermoscopy image analysis instrument for the diagnosis of primary melanoma. *Arch Dermatol* 2005;141(11):1388-96.

71. Sandoz P, Marsaut D, Armbruster V, Humbert P, Gharbi T. Towards objective evaluation of the skin aspect: principles and instrumentation. *Skin Res Technol* 2004;10(4):263-70.
72. Voros E, Robert C, Robert AM. Age-related changes of the human skin surface microrelief. *Gerontology* 1990;36(5-6):276-85.
73. Dessy LA, Mazzocchi M, Rubino C, Mazzarello V, Spissu N, Scuderi N. An objective assessment of botulinum toxin A effect on superficial skin texture. *Ann Plast Surg* 2007;58(5):469-73.
74. Traikovich SS. Use of topical ascorbic acid and its effects on photodamaged skin topography. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1999;125(10):1091-8.
75. Rachel JD, Jamora JJ. Skin rejuvenation regimens: a profilometry and histopathologic study. *Arch Facial Plast Surg* 2003;5(2):145-9.
76. Rubino C, Farace F, Dessy LA, Sanna MP, Mazzarello V. A prospective study of anti-aging topical therapies using a quantitative method of assessment. *Plast Reconstr Surg* 2005;115(4):1156-62; discussion 63-4.
77. Fournier N, Dahan S, Barneon G, et al. Nonablative remodeling: a 14-month clinical ultrasound imaging and profilometric evaluation of a 1540 nm Er:Glass laser. *Dermatol Surg* 2002;28(10):926-31.
78. Saur R, Schramm U, Steinhoff R, Wolff HH. [Structure analysis of the skin surface using computer-assisted laser profilometry. New method for the quantitative assessment of roughness structure of the skin]. *Hautarzt* 1991;42(8):499-506.

ARTIGO CIENTÍFICO

Texto em português segundo as normas da revista *Skin Research and Technology*.

Título: Emprego da fotografia digital para avaliação da topografia microscópica da pele

Autores:

Larissa Marília Chambô Cordaro

Departamento de Dermatologia da FMB-Unesp, Botucatu, SP, Brasil

Hélio Amante Miot

Departamento de Dermatologia da FMB-Unesp, Botucatu, SP, Brasil

Endereço para correspondência:

Larissa Marília Chambô Cordaro

Departamento de Dermatologia da Faculdade de Medicina da Unesp, S/N.

Campus Universitário de Rubião Jr.

18618-000 – Botucatu – SP

E-mail: lmchambo@hotmail.com

FONE/FAX: 14 3811 6015

Resumo

Fundamentos: A superfície cutânea é formada por microestruturas poligonais que permitem estimar sua textura e hidratação. A avaliação quantitativa dessa topografia proporciona estimativa da organização e função de estruturas cutâneas, permitindo análise de respostas terapêuticas a intervenções. O uso da fotografia digital microscópica para avaliação do microrelevo superficial pode contribuir para quantificação de aspectos visíveis da pele.

Objetivos: Desenvolvimento e validação de sistema fotográfico digital de microscopia de superfície para avaliação quantitativa da topografia microscópica da pele.

Métodos: Avaliou-se uma área de 0,25 cm² de pele dos antebraços de 47 mulheres voluntárias, de fototipos II a IV. As imagens foram coletadas de modo padronizado utilizando-se Câmera Nikon® D70, empregando objetiva macro e lente polarizadora circular acoplados a dermatoscópio sem a lâmina de contato com a pele. Foram realizados experimentos para testar a influência da luminosidade externa, melhor canal de cor e validação da técnica a partir do uso de substância hidratante, avaliação da topografia microscópica da pele em relação à faixa etária e em relação à xerose cutânea sintomática sob tratamento imediato.

Resultados: Não se observou interferência da iluminação externa nas leituras de luminância média e na repetitividade nas medidas de dispersão dos *pixels*. O modo de cor que representou melhor desempenho quanto à reprodutibilidade e capacidade discriminatória foi o *Gray*. Os índices de complexidade textural que apresentaram melhor performance quanto à discriminação e reprodutibilidade das

amostras foram: *Entropia*, *Ra*, *Rq* e *Dimensão fractal*. O sistema foi capaz de detectar diferença significativa entre o relevo dos antebraços antes e após a aplicação de substância hidratante em pacientes com e sem xerose sintomática. Não foi possível, identificar uma escala etária precisa a partir das variáveis estudadas.

Conclusões: Foi desenvolvido e validado um método fotográfico para avaliar objetivamente a topografia microscópica da superfície da pele sob diferentes regimes de hidratação. O desenvolvimento de um método de baixo custo, tecnicamente simples, objetivo e de adequada reprodutibilidade pode contribuir na difusão da pesquisa dermatológica de qualidade ao redor do mundo.

Palavras-chave: Antebraço, Dermatologia, Envelhecimento da pele, Fotografia, Hidratação, Ictiose, Pele, Topografia.

Abstract

Background: The skin surface is composed of fine lines intersecting each other and forming polygons which reflect its texture and hydration. A quantitative assessment of this topography estimates organization and biological functions of skin structure, can help to evaluate effectiveness of products and surgical techniques. Microscopic digital image analysis of the skin surface may be useful to amount the visually perceived skin changes.

Purpose: To develop and validate a microscopic digital image analysis system to objectively assess quantitative measurements of skin microtopography.

Methods: A 0,25cm² area from 47 voluntary women forearms which skin phototypes was II to IV has been evaluated. Pictures have taken in a standardized way by a Nikon D70 camera, using macro lens and a parallel polarized filter attached to a dermoscopy set without skin contact plate. We have tested influence of external illumination, best color channel, and the technique was validated using a moisturizing substance. Correlation to age has been attempted using validated variables. Cutaneous xerosis treatment has been also estimated.

Results: External illumination has not influenced mean luminance and the repetitivity of pixels dispersion measures. Gray channel has represented best reproductibility and discriminatory characteristics. Entropy, Ra, Rq and Fractal dimension were complexity indexes with best textural performances. The system has been able to detect significative differences between forearms surface topography before and after moisturizing in healthy or xerotic skin patients. There has not been true correlation between validated textural indexes and age.

Conclusions: A photographic method to objectively assess microscopic skin topography has been developed and validated to immediate skin moisturizing. A low

cost, easy technical, objective and reproducible method can contribute to quality dermatology research around the world.

Key words: Forearm, Dermatology, Skin aging, Photography, Ichtyosis, Skin, Topography.

Introdução

A pele, como um órgão visível, exerce grande influência nas relações sociais, seja no âmbito profissional ou pessoal, é conhecida como “espelho” do corpo, revelando, à primeira vista, impressão de saúde ou doença.^{1, 2} O estigma social e impacto na qualidade de vida decorrentes da doença cutânea são importantes nesse contexto.³ Uma pele sem alterações de coloração, textura e com brilho reflete um bem estar físico e psicológico.

A superfície da pele é formada por linhas e saliências de vários tamanhos e profundidades. Tais irregularidades representam alterações plásticas da derme que ocorrem durante toda a vida, resultados de um contínuo processo de movimentação associado ao envelhecimento fisiológico ou patológico. Essa topografia microscópica é conhecida como “quadriculado da pele”, estima indiretamente o grau de envelhecimento e permite a análise indireta da textura e hidratação cutânea.^{2, 4-10}

De acordo com a classificação de Hashimoto é possível categorizar esses sulcos medindo-se a profundidade que apresentam. Dessa forma são divididos em sulcos ou linhas primárias (20 - 100 μm), secundárias (5 - 40 μm), terciárias (± 0.5 μm) e quaternárias (<0,5 μm), formando juntos a micro topografia superficial da pele. Apenas os primeiros dois grupos (primários e secundários) podem ser observados a olho nu.¹¹

Há vários métodos, diretos e indiretos, para realização da análise da topografia microscópica da pele. Um dos métodos indiretos mais empregados para essa avaliação é a profilometria óptica.¹² Uma das críticas aos métodos profilométricos é a necessidade da produção de réplicas da pele através de moldes de silicone. Novos métodos diretos, como a profilometria por capacitância da pele e a interferometria a laser, têm despertado o interesse dos pesquisadores por suplantarem algumas críticas dos métodos anteriores, como a reprodutibilidade, a não

invasividade, avaliação de maiores áreas e a independência da formação de réplicas.^{6, 13-16}

Em sistemas fotográficos digitais, o reconhecimento de padrões de textura, porosidade e de rugas da pele pode ser representado em função da intensidade dos *pixels* e do seu arranjo, formando estruturas. Essas análises fotográficas são largamente empregadas em dermatologia, principalmente na avaliação qualitativa de tratamentos.⁴

A complexidade, caos ou desordem de uma imagem digital diz respeito à heterogeneidade da distribuição dos *pixels* em duas dimensões. Uma das formas mais simples de estimar a complexidade dessa distribuição é a medida do desvio padrão do seu histograma.

As medidas texturais de rugosidade (*Roughness*) empregadas nas análises profilométricas podem ser transpostas para a análise de imagens. Como seus valores são conhecidos, as intensidades dos *pixels* são comparáveis às profundidades relativas das linhas, e, dessa forma, permitem a estimativa de *Ra*, *Rq*, *Rsk*, *Rku*, *Rv*, *Rp* e *Rt*.^{13, 17, 18}

A matemática fractal permite a quantificação do grau de desordem de um sistema em função da complexidade de como o espaço é ocupado. O índice mais utilizado nessa avaliação é a *Dimensão fractal*.

O algoritmo mais empregado para descrever textura de imagens é o *GLCM* (*Gray level co-occurrence matrix*), que se compõe de diferentes índices: *Entropia*, *Segundo momento angular*, *Correlação*, *Contraste* e *Diferença do momento inverso*.^{9, 17, 19, 20} A medida de cada índice do *GLCM* deriva de cálculos referentes à heterogeneidade dos *pixels* em relação a seus vizinhos.

A análise da superfície da pele empregando a microscopia de superfície, com controle rigoroso da distância, da iluminação e da topografia analisada, permite a avaliação de vários elementos da pele, entre eles, o micro relevo da sua superfície. A quantificação das estruturas microscópicas que formam a topografia cutânea pode ser estimada a partir das teorias já desenvolvidas pelas técnicas clássicas de profilometria e aplicadas na interpretação dos padrões de *pixels* capturados pela microscopia de superfície.^{13, 21-23}

Dessa forma, nosso estudo buscou o desenvolvimento e validação de um sistema fotográfico digital de microscopia de superfície para uma análise objetiva e quantitativa da topografia microscópica da pele.

Além disso, avaliou-se a interferência da luminosidade externa, o melhor canal de cor e índices de complexidade para análise das imagens, seu emprego no desenvolvimento de uma escala etária e análise quantitativa da microscopia da pele para avaliação da resposta terapêutica em pacientes portadores de xerose cutânea sintomática.

Materiais e Métodos

Pacientes

Foram selecionados 40 voluntários adultos saudáveis e sete com xerose cutânea sintomática, do sexo feminino, de 19 a 63 anos (média 40,9 anos), conscientes e concordantes, portadores de fototipos II a IV, entre os pacientes dos ambulatórios de dermatologia geral da Faculdade de Medicina da Unesp – Botucatu.

Como critério de inclusão, os voluntários não deveriam possuir dermatoses, malformações, alterações de cor (discromias ou tatuagens), ou pêlos nas áreas avaliadas dos membros superiores.

Foi definido como xerose cutânea sintomática pacientes com queixas de pele seca, prurido ou eczema em outra topografia que não a analisada.

O estudo foi aprovado pelo comitê de ética e pesquisa da FMB – UNESP (588/2006) e todos os voluntários assinaram termo de consentimento esclarecido previamente aos experimentos (Anexos II e III).

Captção das imagens

As 1560 fotografias microscópicas foram realizadas com Câmera Nikon® D70, empregando objetiva Macro Nikkor® 60 mm e lente polarizadora circular (Hoya®) acoplados ao dermatoscópio Optiview® com 6 LEDs (*Light Emitting Diode*), sem a lâmina de contato com a pele. Foi utilizada para o estudo uma ogiva obscurecida para minimizar a interferência da iluminação externa (Figura 1).

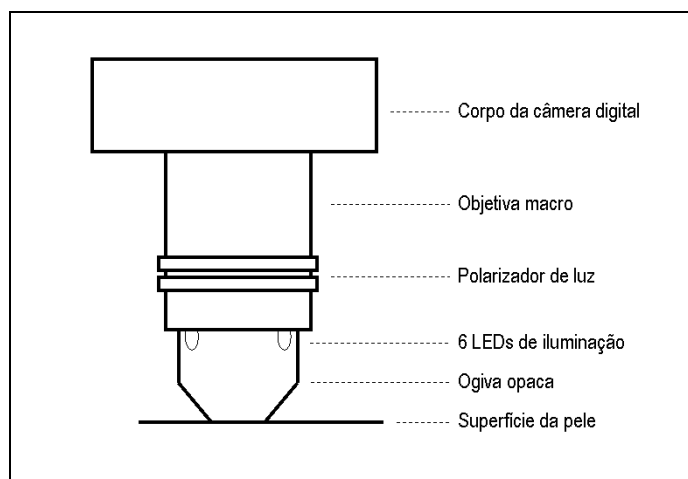


Figura 1 Diagrama esquemático do sistema de captura de imagem.

Foi empregada resolução de 2240x1488 *pixels*, no modo de alta qualidade, com densidade de 300 dpi e sistema de cor com 24 bits (sRGB). As imagens foram arquivadas em formato *.jpg (JPEG).²⁴ O aumento real do sistema composto foi de 28 vezes, apresentando uma densidade de 110 *pixels/mm*.

A face anterior dos antebraços foi selecionada para captura das imagens (Figura 2), por tratar-se de área com menor concentração de pêlos, maior homogeneidade de estruturas.¹³



Figura 2. Padronização da topografia corporal para a captura de fotos (seta).

Região de interesse nas imagens

Para a definição da área analisada nas imagens capturadas, foi padronizada a seleção onde há maior homogeneidade de iluminação, resultando em 0,25 cm quadrados de pele (0,5 x 0,5 cm), localizada a partir do centro geométrico da imagem, totalizando 302.500 *pixels* (Figura 3).

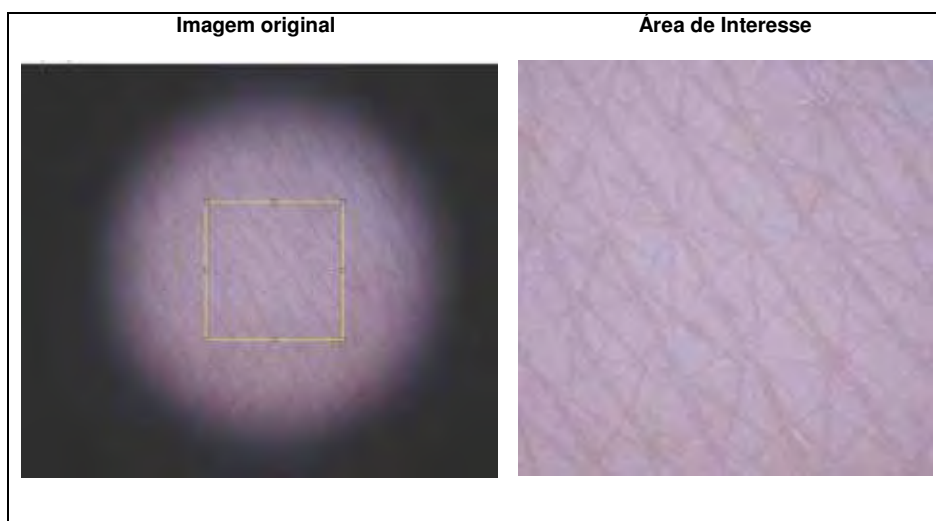


Figura 3. Exemplo da seleção da região de interesse (550 x 550 pixels) da imagem original.

Avaliação da interferência da luz externa e repetitividade do sistema de análise

Foram realizadas dez fotos consecutivas no antebraço direito de cinco pacientes, sem movimentação da lente a partir dos parâmetros estabelecidos, utilizando como variável dependente apenas a luz externa (acesa x apagada).

Foram avaliadas as variações na intensidade média de cor (luminância média) e da distribuição das intensidades de tons (desvio padrão) no histograma de cores (256 cores) após a correção quanto ao nuance.

A análise foi realizada pareadamente entre as voluntárias de acordo com a presença ou não da iluminação do ambiente. Para definir a importância da iluminação externa nas medidas, foi adotado como limite de variação aceitável para esse experimento uma variação absoluta inter-grupo (luz acesa X luz apagada) inferior a 5%.¹¹ Para estimar a repetitividade e precisão do sistema de captura, foi adotada a avaliação do coeficiente de variação (CV%) das medidas intra-grupo, dez leituras por voluntário (CV < 5%).

Avaliação do melhor filtro de cor para análise das imagens

Os modos de cor: *Red, Green, Blue, Gray, Hue, Saturation, Bright, X, Y, Z, L**, *a** e *b**; após a correção de nuance de iluminação, foram avaliados nas imagens capturadas para se estimar qual proporciona melhores reprodutibilidades entre as imagens e discriminação entre os antebraços estudados.

O teste foi realizado em cinco voluntárias, foram realizadas doze fotos de cada indivíduo, não seqüenciais, alternando-se antebraço direito (seis fotos) com antebraço esquerdo (seis fotos).

A variável escolhida para comparar a quantidade de informação das imagens foi o desvio padrão dos histogramas de tonalidades, em cada canal de cor. A reprodutibilidade das medidas em cada antebraço foi avaliada pelo CV% dos desvios padrão dos seis histogramas e estimado seu intervalo de confiança de 99% (IC 99%), baseado na amostra de dez antebraços. Foram considerados inadequados os canais de cor que apresentaram $CV > 5\%$.

A capacidade discriminatória dos modelos de cor foi avaliada pareadamente a partir da diferenciação entre as medidas (média dos desvios padrão dos histogramas) dos antebraços direito e esquerdo para cada canal de cor. Foi considerado como discriminatório o canal de cor que apresentou maior índice de variância interna (estatística F ou diferença de postos), na comparação com o antebraço contralateral.

Avaliação da reprodutibilidade dos índices de complexidade textural de imagem

Os diferentes índices de complexidade textural da imagem foram avaliados para se estimar quais proporcionam as melhores reprodutibilidades entre as imagens capturadas e discriminação entre os antebraços estudados.

O teste foi realizado nas cinco voluntárias do experimento anterior, foram realizadas doze fotografias não seqüenciais, alternando-se os lados direito (seis fotos) e esquerdo (seis fotos) entre cada uma delas. As imagens foram dispostas pelo canal de cor selecionado na avaliação anterior, recortadas, corrigidas quanto ao nuançe de luz, filtradas quanto à freqüência que reteve maior quantidade de informação textural e filtradas por mediana.

Logo após, foram analisadas de acordo com os seguintes índices de complexidade: *Desvio padrão do Histograma de cores* e *GLMC (Gray-level cooccurrence matrix = Entropia, Segundo momento angular, Correlação, Contraste e Diferença do momento inverso)*, *Fração de área*, *Dimensão fractal*, e *Rugosidade (Roughness = Rq, Ra, Rsk, Rku, Rp, Rv, Rf)*. Foi comparada a reprodutibilidade e discriminação dos índices oriundos desses processos.²⁵⁻³⁰

Foram adotados os mesmos critérios de reprodutibilidade e discriminação do experimento anterior

Validação do método

O teste foi realizado em 30 voluntários, foram realizadas dez fotografias, não consecutivas, pré-aplicação de creme com propriedades hidratantes (Redermic®, La Roche Posay), alternando-se o antebraço direito com o esquerdo. Em seguida, foi realizado mesmo procedimento após a aplicação de creme, com o objetivo de se estudar das alterações do micro relevo cutâneo após hidratação tópica imediata.

Após o processamento das fotografias, foram comparadas as medidas de complexidade texturais de imagem selecionadas pelo experimento anterior como de melhor reprodutibilidade e melhor discriminação das imagens dos antebraços antes e após a aplicação do hidratante.

Avaliação da topografia microscópica da pele em relação à faixa etária

O teste foi realizado com os 30 voluntários anteriores, foram realizadas séries de dez fotos não seqüenciais, sob protocolo descrito anteriormente, alternando os antebraços direito e esquerdo de cada paciente. Em seguida, foram empregados os índices de complexidade textural das imagens de melhores reprodutibilidade e discriminação, definidos nos experimentos anteriores, e correlacionados com a idade das voluntárias.

Avaliação da topografia microscópica da pele no tratamento da xerose cutânea

O teste foi realizado em sete voluntárias, portadoras de xerose cutânea sintomática, foram realizadas dez fotografias, não-consecutivas, pré-aplicação de creme com propriedades hidratantes (Redermic®, La Roche Posay), alternando-se o antebraço direito com o esquerdo, empregando a metodologia descrita anteriormente. Em seguida, foi realizado o mesmo procedimento após a aplicação de creme hidratante com o objetivo de se fazer um estudo das alterações do micro relevo cutâneo imediatamente após hidratação tópica.

Após o processamento das fotografias, foram comparadas as medidas de complexidade texturais de imagem selecionadas anteriormente como de melhor reprodutibilidade e melhor discriminação das fotografias dos antebraços antes e após a aplicação do hidratante.

Análise Estatística

Para a verificação da reprodutibilidade das medidas foi empregado o coeficiente de variação das variáveis. Para comparar as medidas das variáveis

inter-grupos, pareadamente, foi empregado o teste de Wilcoxon e o teste t de Student. A análise da discriminação das variáveis foi realizada pelo valor do teste de Friedman. A correlação entre as faixas etárias das voluntárias e as medidas de complexidade da topografia microscópica foi avaliada a partir do coeficiente de correlação Spearman.

Os dados foram analisados a partir dos softwares Bioestat 5.0® e SPSS 15.0.^{31, 32} Foram considerados significativos valores de p menores que 5%, com distribuição de probabilidade bicaudal.

Resultados

A variação média da luminosidade entre os grupos fotografados sob os extremos de luz acesa e apagada foi de -0,02% (IC 95% -0,07% a 0,03%), sendo considerada mínima a interferência da luz externa na captura fotográfica. Da mesma forma, a variação das médias dos desvios-padrão dos histogramas entre os grupos foi de -0,09% (IC 95% -0,55% a 0,36%), demonstrando adequada homogeneidade na estimativa da variabilidade dos *pixels* nos extremos de iluminação externa (Tabela 1).

Tabela 1. Valores médios por voluntário da luminosidade e do desvio padrão dos histogramas das fotografias capturadas sob luz acesa ou apagada.

Voluntários	Média das Luminosidades			Média dos Desvios-padrão		
	Luz acesa	Luz apagada	Incremento %	Luz acesa	Luz apagada	Incremento %
V1	127.00	126.98	0.01%	42.41	42.37	0.09%
V2	126.68	126.67	0.01%	41.06	41.03	0.07%
V3	126.91	126.93	-0.01%	42.07	42.05	0.04%
V4	126.82	126.92	-0.08%	41.50	41.81	-0.75%
V5	126.69	126.71	-0.02%	40.98	40.94	0.09%
Média	126.82	126.84	-0.02%	41.60	41.64	-0.09%

Teste t pareado GL=4: t= -1,04 p=0,36 (luminância) e t= -0,52 p=0,63 (desvio padrão)

O valor médio do coeficiente de variação da luminosidade foi de 0,03% (IC 95% 0,00% a 0,05%) e do desvio padrão foi de 0,32% (IC 95%0,01% a 0,63%), não se verificando valores acima de 1%, aceitando-se a hipótese que o sistema de captura tem adequada repetitividade (Tabela 2).

Tabela 2. Valores médios por voluntário dos coeficientes de variação (CV%) da luminosidade e do desvio padrão dos histogramas das fotografias.

Voluntários	CV% das medidas de Luminosidade média	CV% das medidas de Desvio padrão
V1	0.01%	0.05%
V2	0.03%	0.39%
V3	0.01%	0.07%
V4	0.05%	0.42%
V5	0.05%	0.65%
Média	0.03%	0.32%

Em relação aos canais de cor, todos mostraram adequada reprodutibilidade dos valores de desvio padrão dos histogramas (Figura 4). Os canais *Gray*, *Saturation*, e *a** apresentaram as maiores diferenças entre os *ranks* (RD = 17, 8 e 5) na comparação entre os antebraços de cada indivíduo (Teste de Friedman, $p < 0,01$).

O canal *Gray* foi identificado como de adequada reprodutibilidade e melhor discriminação, sendo o sistema de cor adotado para as posteriores avaliações.

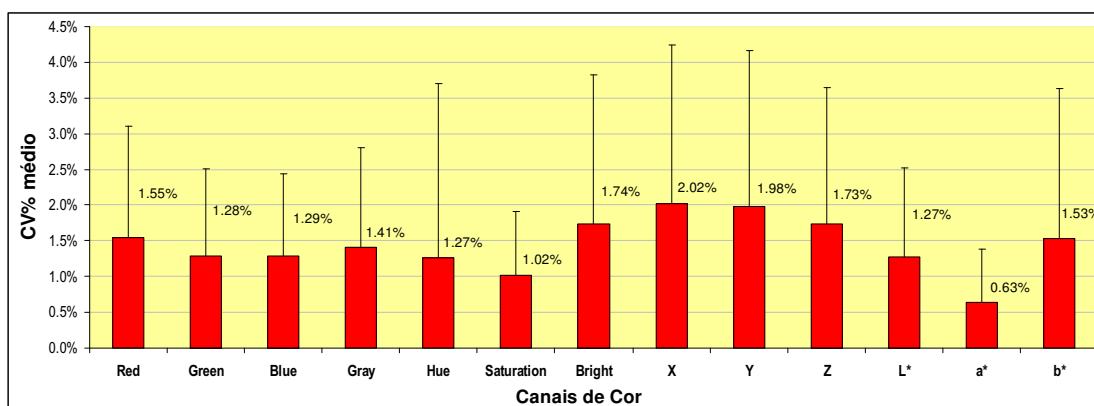


Figura 4 Gráfico representando os coeficientes de variação médios (IC 99%) das médias dos desvios padrão dos histogramas representando os dez antebraços dos voluntários.

No estudo dos índices de complexidade, observamos quanto à reprodutibilidade de suas medidas, que o *Desvio padrão*, *Fração de área*, *Rv*, *Rp*, *Rt*, *Segundo momento angular*, *Contraste*, *Correlação* e *Diferença do momento inverso* apresentaram performances insuficientes (Figura 5).

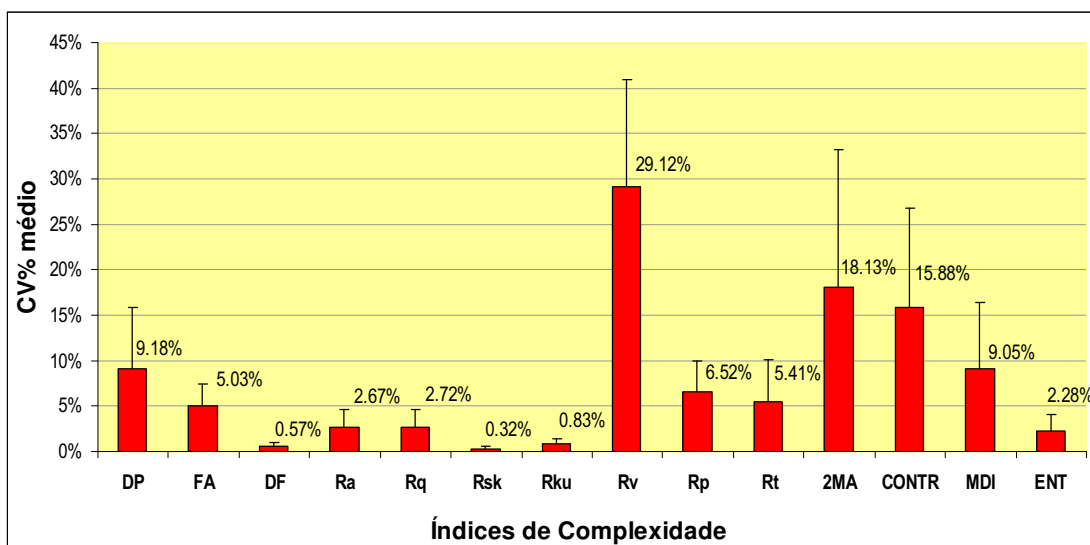


Figura 5 Gráfico representando os coeficientes de variação médios e máximos dos índices de complexidade para as seis fotografias dos dez antebraços dos voluntários (*DP-Desvio padrão*, *FA-Fração de área*, *DF-Dimensão fractal*, *2MA-Segundo momento angular*, *CONTR-Contraste*, *MDI-Diferença do momento inverso*, *ENT-Entropia*).

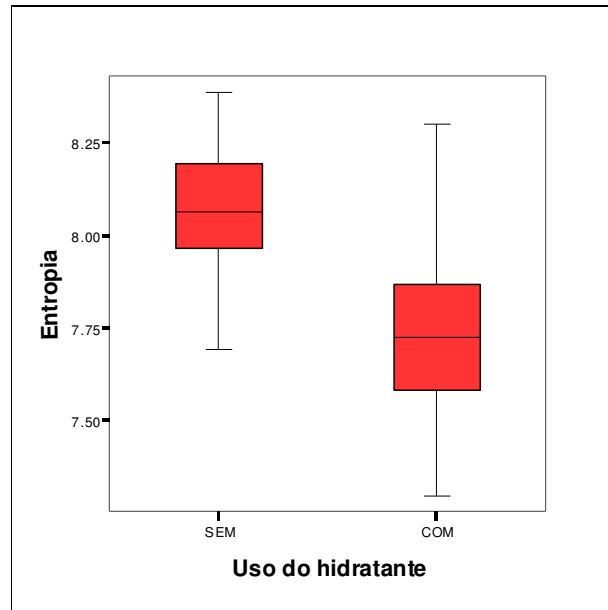
** A variável *Correlação* apresentou CV% médio acima de 300% e foi excluída da representação gráfica.

Os índices *Dimensão fractal*, *Rp*, *Ra*, *Rq*, *Entropia*, *Diferença do momento inverso* e *Contraste* apresentaram as maiores diferenças entre os *ranks* (RD = 5, 5, 4, 4,1,1 e 1) na comparação entre os antebraços de cada indivíduo (Teste de Friedman, $p < 0,01$).

Apenas os índices: *Entropia*, *Ra*, *Rq* e *Dimensão fractal*, foram identificados como de adequada reprodutibilidade e melhor discriminação, sendo adotados como referências de medida de complexidade para os testes posteriores.

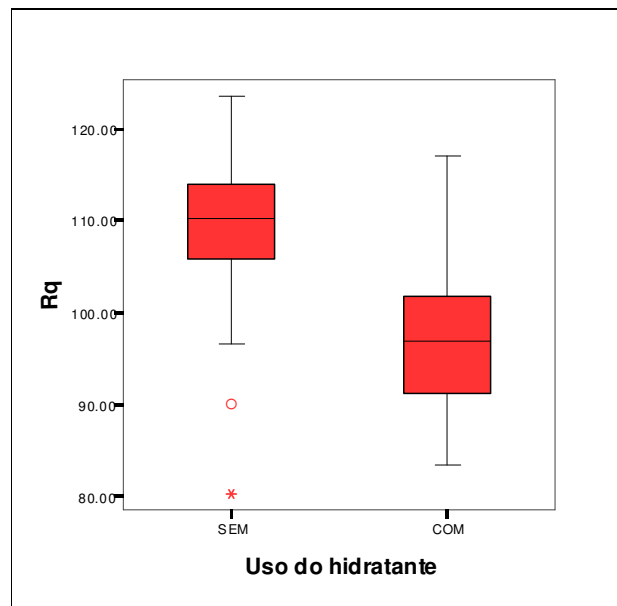
Tanto na validação do método (Figuras 6, 7, 8 e 9) como na comparação da micro topografia da superfície da pele de portadoras de xerose cutânea sintomática

(Figuras 10, 11, 12 e 13) usando esse método, os índices de *Entropia*, *Ra*, *Rq* e *Dimensão fractal* demonstraram diferença significativa entre os antebraços de acordo com a aplicação do creme com propriedades hidratantes ($p < 0,01$).



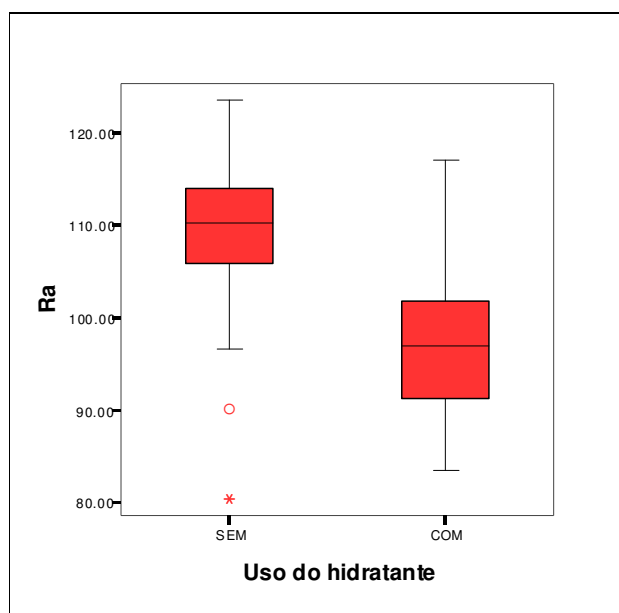
Teste t pareado N=60 T= 10,89 p<0,01

Figura 6. Gráfico *Box-plot* representando as distribuições dos índices médios de Entropia das imagens dos antebraços de pacientes saudáveis SEM o creme hidratante e COM o creme.



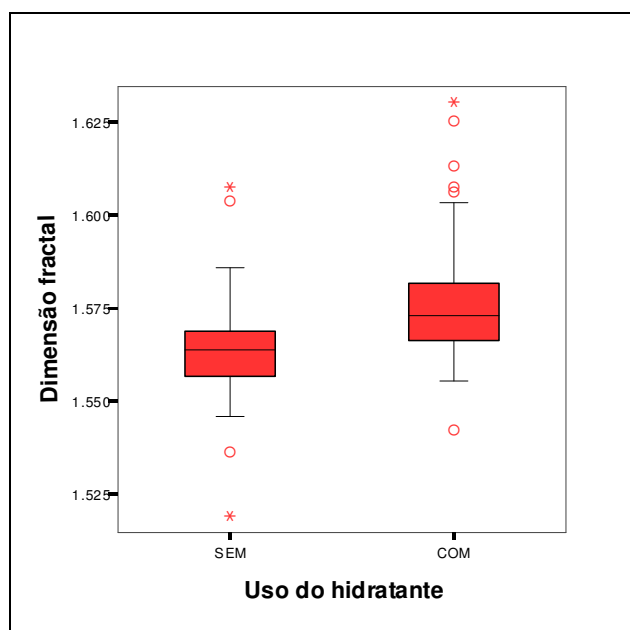
Teste de Wilcoxon N=60 Z= 5,86 p<0,01

Figura 7 Gráfico *Box-plot* representando as distribuições dos índices médios de *Rq* das imagens dos antebraços de pacientes saudáveis SEM o creme hidratante e COM o creme.



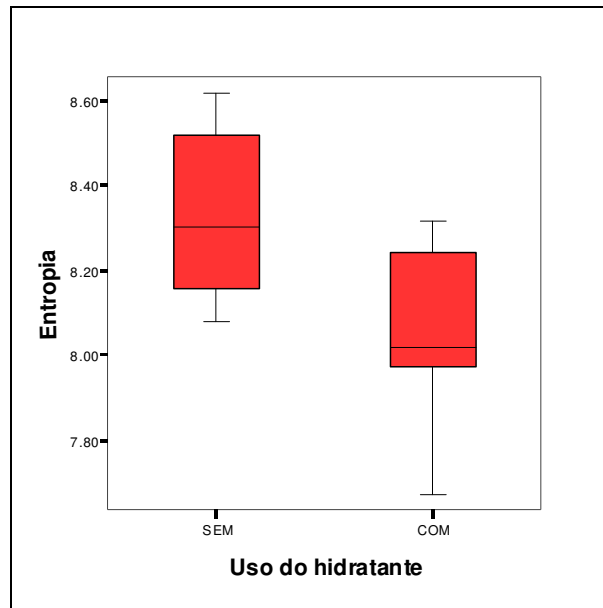
Teste de Wilcoxon N=60 Z= 5,83 p<0,01

Figura 8 Gráfico *Box-plot* representando as distribuições dos índices médios de *Ra* das imagens dos antebraços de pacientes saudáveis SEM o creme hidratante e COM o creme.



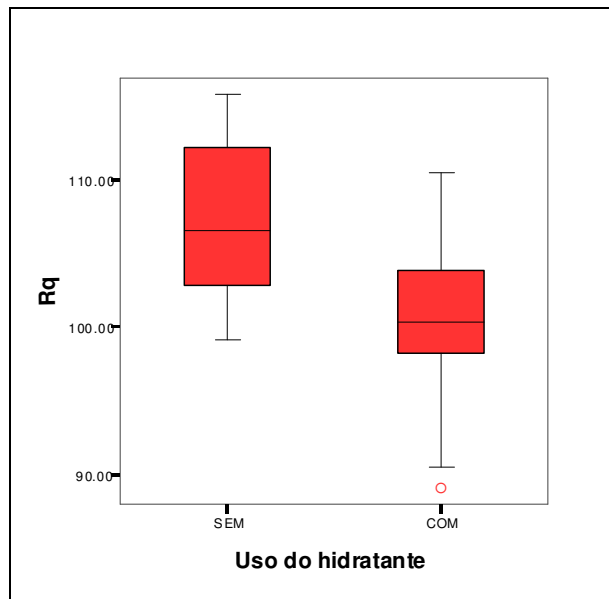
Teste de Wilcoxon N=60 T= 4,56 p<0,01

Figura 9 Gráfico *Box-plot* representando as distribuições dos índices médios de *Dimensão fractal* das imagens dos antebraços de pacientes saudáveis SEM o creme hidratante e COM o creme.



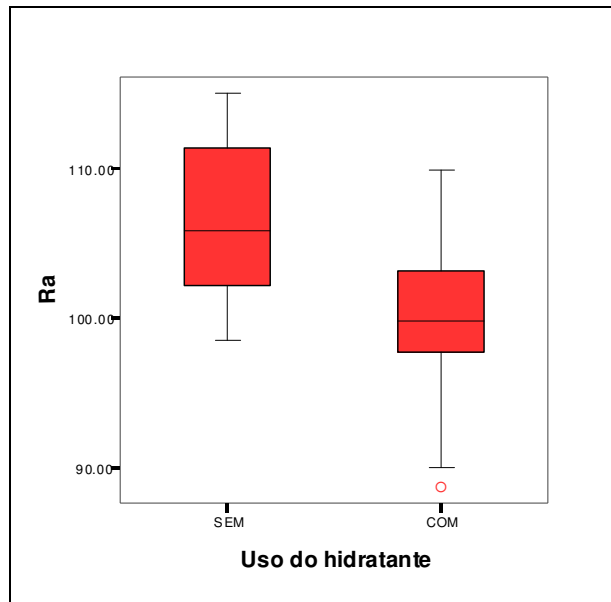
Teste t pareado N=14 T=4,69 p<0,01

Figura 10 Gráfico *Box-plot* representando as distribuições dos índices médios de Entropia das imagens dos antebraços das pacientes com xerose sintomática SEM o creme hidratante e COM o creme.



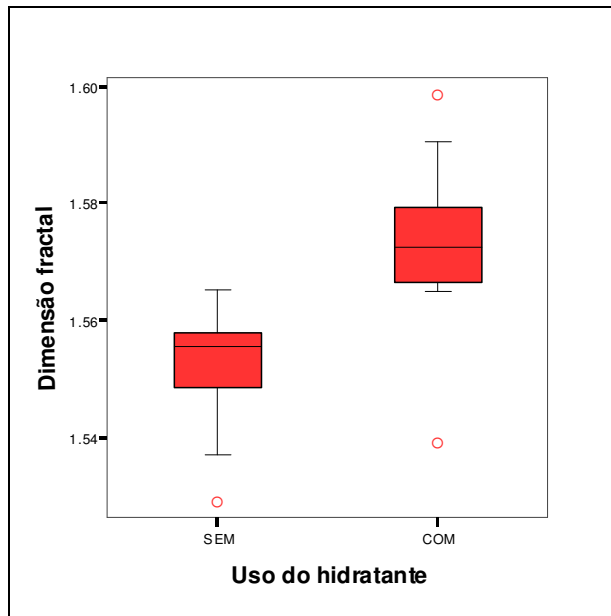
Teste t pareado N=14 T= 3,34 p<0,01

Figura 11 Gráfico *Box-plot* representando as distribuições dos índices médios de Rq das imagens dos antebraços das pacientes com xerose sintomática SEM o creme hidratante e COM o creme.



Teste t pareado N=14 T=3,30 p<0,01

Figura 12 Gráfico *Box-plot* representando as distribuições dos índices médios de *Ra* das imagens dos antebraços das pacientes com xerose sintomática SEM o creme hidratante e COM o creme.



Teste t pareado N=14 T= -7,00 p<0,01

Figura 13 Gráfico *Box-plot* representando as distribuições dos índices médios de *Dimensão fractal* das imagens dos antebraços das pacientes com xerose sintomática SEM o creme hidratante e COM o creme.

Não se observou correlação da idade com os índices de complexidade textural testados sob esse método (Tabela 3).

Tabela 3. Correlação entre idade e índices de complexidade textural da imagem.

Variáveis	R (Spearman)	Valor de p
<i>Entropia</i>	-0,01	0,96
<i>Ra</i>	-0,14	0,28
<i>Rq</i>	-0,14	0,30
<i>Dimensão fractal</i>	-0,04	0,77

Discussão

A textura da pele é avaliada subjetivamente pela percepção táctil do observador e, com isso, está sujeita simultaneamente a múltiplas variáveis intrínsecas e extrínsecas. A diminuição do manto lipídico, por exemplo, irá provocar alterações na queratinização, com acúmulo de células na camada córnea, tornando-a mais áspera.

Algumas doenças cutâneas também modificam a camada córnea, isso ocorre por estímulo de crescimento celular (psoríase), alterações congênitas da queratinização (ictioses), alterações sudorais e da hidratação (dermatite atópica) e exposição acentuada a radiação ultravioleta (queratoses actínicas e fotoenvelhecimento).^{10, 33}

Resíduos de poeira, irritação cutânea, dermatites de contato, limpeza abrasiva ou sudorese também alteram características físico-químicas da camada córnea, interferindo na percepção visual e táctil da pele. Dessa forma, a textura da pele pode apresentar diferenças perceptíveis mesmo ao longo do mesmo dia, ou em áreas diferentes do corpo.³⁴⁻³⁸

A avaliação objetiva da micro topografia da pele pode contribuir para a pesquisa dos elementos que interferem nas mudanças da textura da pele normal ou em situações patológicas, auxiliando no diagnóstico e nas respostas terapêuticas. O desenvolvimento de um sistema quantitativo e eficiente de análise da topografia da

superfície cutânea empregando a microscopia de superfície pode representar uma grande contribuição na avaliação não invasiva dessas alterações.^{13, 17, 28}

No presente estudo, a padronização dos participantes, da região avaliada, a documentação em um curto espaço de tempo e os cuidados prévios de limpeza local e seleção dos pacientes visaram minimizar a interferência de variáveis externas na leitura do quadriculado da pele.

A escolha de voluntários exclusivamente do sexo feminino reflete essa preocupação, já que a presença de pêlos no antebraço é menos freqüente nesse gênero, permitindo homogeneizar a amostra estudada nessa fase de validação. Por outro lado, a grande variabilidade entre indivíduos, ou mesmo entre os antebraços da mesma voluntária, para a estimativa da textura cutânea representa um elemento de confusão na análise de seus resultados. Isso indica a necessidade de rigorosa padronização metodológica relacionadas à captura das fotografias e aos hábitos de vida dos voluntários que participem de estudos clínicos.^{17, 34, 39}

Além da textura, descrita anteriormente como percepção tátil, ainda podemos avaliar a pele em relação à percepção visual. A face é o local do corpo com maior impacto visual e social quando se trata da avaliação cutânea, principalmente pela presença de rugas e de ser foco diretamente relacionado ao envelhecimento.⁴⁰ No entanto, esse estudo se presta à análise dos sulcos primários e secundários que podem ser visualizados a olho nu e estão presentes nos indivíduos, em diferentes intensidades, desde o nascimento, mas que não são classificados como rugas.

A presença da grande densidade de pêlos tipo *vellus*, espessuras diferentes da pele (ainda que próximas), impacto da higiene, cuidados pessoais, poluição, presença de grande concentração de glândulas sudoríparas e sebáceas e alterações devido à exposição contínua à radiação UV (ultravioleta) dificultam a

análise da face por ter que se considerar um grande número de variáveis que podem interferir na leitura do sistema óptico.

Em nosso estudo, e na maioria dos estudos sobre micro topografia da pele, a região escolhida é a face ventral do antebraço. Trata-se de um local de maior homogeneidade da pele, onde as estruturas geométricas superficiais (polígonos) apresentam-se com as características mais definidas e de forma mais constante, além de apresentar menor influência da exposição solar, assim pode ser considerado um local de controle para o envelhecimento fisiológico.^{5, 17, 41}

A validação de métodos não invasivos que avaliem quantitativamente a superfície da pele tem sido objetivo de pesquisa há muitos anos e várias propostas de diferentes métodos são apresentadas rotineiramente. Na maioria das vezes tenta-se relacionar a estrutura superficial da pele com idade e sexo e seu comportamento conforme a evolução, utilizando-se de diferentes medidas como anisotropia, quantificação do número e tamanho de polígonos formados pelo quadriculado, orientação e direção dos sulcos. Contudo, devido à grande variabilidade estrutural e metodológica ainda há dificuldade na padronização dos métodos.^{2, 17, 41, 42}

Métodos *in vivo* que utilizam iluminação artificial possibilitam uma completa documentação de vales e picos, e pode-se estabelecer parâmetros de medida da mesma área do tegumento, como foi empregado neste estudo. Por outro lado, métodos fotográficos são extremamente sensíveis a movimentação do paciente, focagem e movimento de pulsação.

Diversos outros trabalhos apresentam a busca por um método ideal com melhor reprodutibilidade e sensibilidade para avaliação da topografia superficial utilizando-se dos mais variados processos, como Lagarde e colaboradores que avaliaram a anisotropia (densidade dos sulcos de acordo com profundidade e

orientação) para comparar as rugas temporais e nos antebraços em relação ao sexo e idade dos pacientes, entretanto, tratou-se de avaliação complexa, não separando micro de macro topografia e que encontrou certa dificuldade em relacionar sexo e idade.⁵

A interferência da luminosidade externa é um dos fatores que podem influenciar na captura das imagens, na validação de um método de análise da topografia da pele.¹⁷ Em outro estudo de Lagarde e colaboradores, foi encontrada uma pequena variação nos dados obtidos de acordo com a mudança da intensidade luminosa no ambiente, sendo necessária padronização da luz a fim de que se evitasse a calibração do aparelho após cada captura. No entanto, em seu estudo, não se tratava de sistema fechado, como o empregado neste trabalho.⁶

Neste trabalho, pudemos concluir que a estratégia de ofuscamento da ogiva do dermatoscópio neutralizou a interferência da luz externa nas medidas de luminância e na distribuição (variabilidade) dos *pixels*. O grau de desordem também não sofreu influência da iluminação externa. Nesse ínterim, o sistema desenvolvido demonstrou alta repetitividade na estimativa desses parâmetros.

Métodos ópticos devem ser rigorosamente padronizados para não sofrerem efeitos da luz externa ao sistema de medição, assim como alterações da cor da superfície avaliada. Alterações lineares, como pêlos, são interpretadas pelo sistema como linhas primárias dispostas na imagem. Alterações maculares, como lentigos, vitiligo ou leucodermia solar são interpretadas como descontinuidades das linhas, e geram novas estruturas ópticas de difícil interpretação. Da mesma forma, a homogeneidade e direcionamento da iluminação promovem diferentes efeitos na leitura das imagens. Iluminações anguladas podem salientar a intensidade de sulcos transversais e amenizar os paralelos à fonte luminosa.¹⁷

Em nosso estudo, a correção da iluminação mais intensa do centro da fotografia pelo algoritmo de correção de nuance de luz *a posteriori* visou minimizar esse efeito e permitir a segmentação uniforme de todos os setores da fotografia.

O direcionamento da luz interfere na percepção da profundidade dos sulcos, dessa maneira, o uso de polarizador circular (paralelo) intensificou o contraste das irregularidades da superfície da pele, permitindo apenas o registro da luz refletida em uma direção, no sentido do sensor da câmera.^{17, 43}

Sistemas de análise da micro topografia da pele, como a profilometria óptica, apresentam grandes variabilidades entre as medidas, sofrem interferência de fatores como bolhas de ar, pêlos vellus, poeira e até a pressão dos moldes de silicone para fazer as réplicas.^{34, 36}

Além disso, o alto custo e a pequena área de análise (<0,1 cm²) estimulam o desenvolvimento de sistemas alternativos. Métodos efetivos que analisem áreas maiores da pele e baseados em propriedades ópticas devem reproduzir mais fielmente as percepções dos próprios pacientes.

O desenvolvimento de um sistema quantitativo e eficiente de análise da topografia da superfície cutânea empregando a microscopia de superfície pode representar uma grande contribuição na avaliação não invasiva das alterações da pele saudável ou doente submetida a tratamentos (hidratantes, ácidos orgânicos), a exposições ambientais (radiação ultravioleta, tabagismo) ou profissionais (substâncias tóxicas, oxidativas, detergentes).^{28, 44-46}

A escolha pelo melhor canal de cor teve por objetivo eleger o filtro que apresentasse maior reprodutibilidade e maior capacidade discriminatória. Em relação à reprodutibilidade, buscou-se o canal capaz de manter e identificar as características da imagem de um mesmo voluntário, capturada em diferentes

momentos. A capacidade discriminatória, utilizada para diferenciar os indivíduos, foi mais bem identificada nos canais *Gray*, *Saturation*, e *a** contudo a informação obtida pelos filtros *Saturation*, e *a** não reproduziam a imagem com coerência. Assim o filtro *Gray* foi o que apresentou adequada reprodutibilidade e melhor discriminação, sendo adotado como sistema de cor para os testes posteriores. A utilização do filtro *Gray* para a análise do histograma de cores já foi utilizada em outros estudos da micro topografia da pele.⁴⁷

Para análise das diferenças na estrutura superficial do microrelevo, estudamos a complexidade textural das linhas primárias e secundárias de acordo com a disposição, profundidade e orientação das mesmas.

O método mostrou-se capaz de identificar diferenças no quadriculado da pele, entre os mesmos indivíduos, quando comparamos o antebraço previamente à aplicação de creme hidratante e após a aplicação do mesmo. Essa diferença visível a olho nu, durante exame clínico, pôde ser confirmada pela modificação nos índices de complexidade das imagens capturadas.¹⁷ Em pacientes com xerose sintomática, em que esses sulcos e linhas mostram-se mais evidentes e intensos, conseguimos reproduzir os resultados obtidos pelo método.

No entanto, as mudanças provocadas pela hidratação imediata deste estudo ocorreram principalmente em relação às linhas secundárias, como constatamos visualmente, e foram representadas pelos resultados obtidos pelos índices de complexidade.

A *Dimensão fractal* mostrou-se um índice preciso, já que as diferenças entre as amostras se situavam na escala de décimo de milhar, e que discriminou adequadamente os grupos. Paradoxalmente, observou-se um significativo aumento nos valores obtidos após a hidratação, já que se esperava uma redução da

percepção dos sulcos secundários e a não formação de linhas eskeletonizáveis, reduzindo o índice.^{48, 49}

Porém, durante o processamento, a redução dos contrastes dos sulcos secundários causado pelo hidratante resultou em irregularidades na binarização e na posterior eskeletonização que foram representadas por áreas localmente mais complexas, portanto, com aumento transitório da *Dimensão fractal*.

A *Entropia* se revelou um importante índice de textura avaliado nesse estudo, evidenciando que o uso de hidratante aumenta o nível de energia organizacional dos *pixels*. Esse efeito também pode ser observado pela redução do desvio padrão dos histogramas de imagem, já que ocorre menor variabilidade entre os tons. Por outro lado, apenas foi investigado o comportamento desse índice em relação a regiões distantes cinco *pixels* do centro. Ou seja, o índice sofre profunda influência da escala de análise utilizada e pode apresentar desempenho diferente se outra densidade de *pixels* for selecionada.^{19, 20, 25, 50}

A pequena, mas significativa, variação identificada pelos índices de complexidade nas fotografias dos antebraços durante a validação reforça a idéia que estudos do tipo “antes e depois” devem comparar apenas imagens de antebraços ipsilaterais, sob pena de que a discrepância bilateral do quadriculado individual inviabilize a detecção de modificações discretas em ambos os lados.²

Um dos elementos favoráveis ao uso desse método é que mensura características perceptíveis a olho nu, portanto o sistema consegue quantificar alterações visíveis, e não alterações tão sutis, que não sejam percebidas, o que pode colaborar no desenvolvimento de produtos visando melhora na percepção direta do paciente.

A produção de uma escala etária a partir da análise da topografia da superfície da pele é objeto de grande pesquisa, a correlação com faixa etária já foi observada em outros estudos, como por exemplo, na avaliação dos polígonos formados pelas linhas primárias. Foi desenvolvido método que analisou o número, área, perímetro e diâmetro dessas estruturas, evidenciando variação na conformação superficial com o passar do tempo. Com o envelhecimento, os polígonos tornam-se maiores, porém em menor número.^{17, 41}

Mesmo com essa correlação bem definida, não foi possível desenvolver uma escala de idade empregando esse método. No nosso estudo, não observamos adequada correlação entre os índices de complexidade das imagens capturadas de acordo com a distribuição da idade.

Devemos ressaltar que a idade não é um fator modificador isolado do quadriculado da pele, e que a face ventral do antebraço, mesmo em menor grau, sofre influência de diversos fatores, internos e externos, que dificultam essa correlação. A própria diferença entre os quadriculados bilaterais evidencia esse aspecto.

Nesse íterim, a capacidade de representação e quantificação dos sulcos primários pode se revelar um índice de boa conservação da pele, o que, do ponto de vista analítico, importa mais que a idade. Os índices de complexidade estudados mostraram correlação entre seus resultados, mostrando certa coerência na grandeza avaliada por eles, porém, não foi possível utilizar essas informações na reprodução de uma escala etária.

No nosso estudo também observamos restrições em relação ao método desenvolvido. A fonte de energia elétrica utilizada para captação das imagens (pilhas) não foi contínua e de acordo com a sua aplicação houve variação na

intensidade luminosa das LEDs utilizadas, o que pode ser corrigido e padronizado utilizando uma fonte de energia contínua durante a aplicação do método.¹⁷

A precisão do foco para a captação da imagem interfere demasiadamente no resultado final da análise. Superfícies com maior densidade de linhas secundárias em relação às primárias apresentam um grau de dificuldade maior para se encontrar o foco ideal. Uma imagem desfocada pode não identificar corretamente a complexidade estrutural, principalmente em relação aos índices relacionados a *Dimensão Fractal*, já que o processamento da binarização para posterior esqueletonização é o maior prejudicado pelo foco. Muitos autores desprezam os espécimes ou as fotografias que resultaram em imagens de má qualidade.⁵¹⁻⁵³

O método apresentado oferece grande potencial de aplicabilidade clínica já que a imagem digital está amplamente presente nos consultórios médicos e vem proporcionando grande crescimento na pesquisa clínica. A relação dos resultados numéricos (quantitativos) com a percepção clínica pode reproduzir mais fielmente as percepções dos próprios pacientes, o que contribui para a pesquisa dermatológica e cosmiátrica de qualidade ao redor do mundo.

Apesar do método descrito se mostrar confiável e de comprovada validade interna, outros estudos clínicos são necessários para estimar seu uso na prática da pesquisa dermatológica.

Conclusão

Foi desenvolvido e padronizado um método fotográfico para documentar objetivamente a topografia microscópica da superfície da pele *in vivo*.

Uma técnica de análise de imagem digital para estimar quantitativamente a topografia microscópica da pele foi desenvolvida e validada. O sistema apresentou alta repetitividade, reprodutibilidade e capacidade discriminatória.

A influência da luminosidade externa não interferiu no sistema de captura. O canal *Gray* apresentou-se como melhor canal de cor para as análises. A partir da estimativa da *Entropia*, *Dimensão fractal*, *Ra* e *Rq* das imagens foi possível detectar a modificação da hidratação imediata da pele normal e com xerose cutânea.

Os parâmetros estudados não permitiram estabelecer uma escala etária de envelhecimento da pele.

O desenvolvimento de um método de baixo custo, tecnicamente simples, objetivo e de alta reprodutibilidade deve contribuir na difusão da pesquisa dermatológica de qualidade ao redor do mundo.

Referências bibliográficas

1. Nicolaidou E, Antoniou C, Katsambas AD. Origin, clinical presentation, and diagnosis of facial hypermelanoses. *Dermatol Clin* 2007;25(3):321-6.
2. Pierard GE, Uhoda I, Pierard-Franchimont C. From skin microrelief to wrinkles. An area ripe for investigation. *J Cosmet Dermatol* 2003;2(1):21-8.
3. Both H, Essink-Bot ML, Busschbach J, Nijsten T. Critical review of generic and dermatology-specific health-related quality of life instruments. *J Invest Dermatol* 2007;127(12):2726-39.
4. Marks R, Edwards C. The measurement of photodamage. *Br J Dermatol* 1992;127 Suppl 41:7-13.
5. Lagarde JM, Rouvrais C, Black D. Topography and anisotropy of the skin surface with ageing. *Skin Res Technol* 2005;11(2):110-9.

6. Lagarde JM, Rouvrais C, Black D, Diridollou S, Gall Y. Skin topography measurement by interference fringe projection: a technical validation. *Skin Res Technol* 2001;7(2):112-21.
7. Creidi P, Vienne MP, Ochonisky S, et al. Profilometric evaluation of photodamage after topical retinaldehyde and retinoic acid treatment. *J Am Acad Dermatol* 1998;39(6):960-5.
8. Li L, Mac-Mary S, Marsaut D, et al. Age-related changes in skin topography and microcirculation. *Arch Dermatol Res* 2006;297(9):412-6.
9. Quilliam TA. The surface texture of human skin. *J Audiov Media Med* 1978;1(1):25-7.
10. Seddon JM, Egan KM, Zhang Y, et al. Evaluation of skin microtopography as a measure of ultraviolet exposure. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992;33(6):1903-8.
11. Bader W, Bohmer S, Otto WR, Degenhardt F, Schneider J. [Texture analysis: a new method for evaluating ultrasound imaged lesions of the breast]. *Bildgebung* 1994;61(4):284-90.
12. Friedman PM, Skover GR, Payonk G, Kauvar AN, Geronemus RG. 3D in-vivo optical skin imaging for topographical quantitative assessment of non-ablative laser technology. *Dermatol Surg* 2002;28(3):199-204.
13. De Paepe K, Lagarde JM, Gall Y, Roseeuw D, Rogiers V. Microrelief of the skin using a light transmission method. *Arch Dermatol Res* 2000;292(10):500-10.
14. Nardin P, Nita D, Mignot J. Automation of a series of cutaneous topography measurements from silicon rubber replicas. *Skin Res Technol* 2002;8(2):112-7.
15. Leveque JL, Xhauftaire-Uhoda E, Pierard GE. Skin capacitance imaging, a new technique for investigating the skin surface. *Eur J Dermatol* 2006;16(5):500-6.

16. Ryu JS, Park SG, Kwak TJ, et al. Improving lip wrinkles: lipstick-related image analysis. *Skin Res Technol* 2005;11(3):157-64.
17. Fiedler M, Meier WD, Hoppe U. Texture analysis of the surface of the human skin. *Skin Pharmacol* 1995;8(5):252-65.
18. Makki S, Barbenel JC, Agache P. A quantitative method for the assessment of the microtopography of human skin. *Acta Derm Venereol* 1979;59(4):285-91.
19. Tanaka H, Nakagami G, Sanada H, et al. Quantitative evaluation of elderly skin based on digital image analysis. *Skin Res Technol* 2008;14(2):192-200.
20. Valckx FM, Thijssen JM. Characterization of echographic image texture by cooccurrence matrix parameters. *Ultrasound Med Biol* 1997;23(4):559-71.
21. Sanders JE, Goldstein BS, Leotta DF, Richards KA. Image processing techniques for quantitative analysis of skin structures. *Comput Methods Programs Biomed* 1999;59(3):167-80.
22. Chappard D, Degasne I, Hure G, Legrand E, Audran M, Basle MF. Image analysis measurements of roughness by texture and fractal analysis correlate with contact profilometry. *Biomaterials* 2003;24(8):1399-407.
23. Sandoz P, Marsaut D, Armbruster V, Humbert P, Gharbi T. Towards objective evaluation of the skin aspect: principles and instrumentation. *Skin Res Technol* 2004;10(4):263-70.
24. Sneiderman C, Schosser R, Pearson TG. A comparison of JPEG and FIF compression of color medical images for dermatology. *Comput Med Imaging Graph* 1994;18(5):339-42.
25. Oberholzer M, Ostreicher M, Christen H, Bruhlmann M. Methods in quantitative image analysis. *Histochem Cell Biol* 1996;105(5):333-55.

26. Smith AG, Din A, Denyer M, et al. Microengineered surface topography facilitates cell grafting from a prototype hydrogel wound dressing with antibacterial capability. *Biotechnol Prog* 2006;22(5):1407-15.
27. Ahn HH, Kim SN, Kye YC. Digital camera images obtained using a light-emitting diode illuminator and their dermatological applications. *Skin Res Technol* 2006;12(1):11-7.
28. Rubino C, Farace F, Dessy LA, Sanna MP, Mazzarello V. A prospective study of anti-aging topical therapies using a quantitative method of assessment. *Plast Reconstr Surg* 2005;115(4):1156-62; discussion 63-4.
29. Rabe JH, Mamelak AJ, McElgunn PJ, Morison WL, Sauder DN. Photoaging: mechanisms and repair. *J Am Acad Dermatol* 2006;55(1):1-19.
30. Jacobi U, Chen M, Frankowski G, et al. In vivo determination of skin surface topography using an optical 3D device. *Skin Res Technol* 2004;10(4):207-14.
31. Ayres M, Ayres Jr M, Ayres D, dos Santos A. *Bioestat 4.0 - Aplicações Estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas*. . Belém-PA: Sociedade Civil Mamirauá e MCT – CNPq. ; 2004.
32. Mushquash C, O'Connor BP. SPSS and SAS programs for generalizability theory analyses. *Behav Res Methods* 2006;38(3):542-7.
33. Linde YW, Bengtsson A, Loden M. 'Dry' skin in atopic dermatitis. II. A surface profilometry study. *Acta Derm Venereol* 1989;69(4):315-9.
34. Leveque JL. EEMCO guidance for the assessment of skin topography. The European Expert Group on Efficacy Measurement of Cosmetics and other Topical Products. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 1999;12(2):103-14.
35. Linde YW. Dry skin in atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol Suppl (Stockh)* 1992;177:9-13.

36. Sato J, Yanai M, Hirao T, Denda M. Water content and thickness of the stratum corneum contribute to skin surface morphology. *Arch Dermatol Res* 2000;292(8):412-7.
37. Egawa M, Oguri M, Kuwahara T, Takahashi M. Effect of exposure of human skin to a dry environment. *Skin Res Technol* 2002;8(4):212-8.
38. Eberlein-Konig B, Schafer T, Huss-Marp J, et al. Skin surface pH, stratum corneum hydration, trans-epidermal water loss and skin roughness related to atopic eczema and skin dryness in a population of primary school children. *Acta Derm Venereol* 2000;80(3):188-91.
39. Fischer TW, Wigger-Alberti W, Elsner P. Direct and non-direct measurement techniques for analysis of skin surface topography. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 1999;12(1-2):1-11.
40. Malick F, Howard J, Koo J. Understanding the psychology of the cosmetic patients. *Dermatol Ther* 2008;21(1):47-53.
41. Voros E, Robert C, Robert AM. Age-related changes of the human skin surface microrelief. *Gerontology* 1990;36(5-6):276-85.
42. Voros E, Robert C, Robert AM. Comparative study of rheological and surface pattern parameters of human skin as a function of age, work conditions and sun exposure. *Arch Gerontol Geriatr* 1993;17(2):131-42.
43. Anderson RR. Polarized light examination and photography of the skin. *Arch Dermatol* 1991;127(7):1000-5.
44. Dessy LA, Mazzocchi M, Rubino C, Mazzarello V, Spissu N, Scuderi N. An objective assessment of botulinum toxin A effect on superficial skin texture. *Ann Plast Surg* 2007;58(5):469-73.

45. Traikovich SS. Use of topical ascorbic acid and its effects on photodamaged skin topography. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1999;125(10):1091-8.
46. Rachel JD, Jamora JJ. Skin rejuvenation regimens: a profilometry and histopathologic study. *Arch Facial Plast Surg* 2003;5(2):145-9.
47. Awajan A, Rondot D, Mignot J. Quick method of measuring the furrows distribution on skin surface replicas. *Med Biol Eng Comput* 1989;27(4):379-89.
48. Handels H, Ross T, Kreusch J, Wolff HH, Poppl SJ. Computer-supported diagnosis of melanoma in profilometry. *Methods Inf Med* 1999;38(1):43-9.
49. Claridge E, Hall PN, Keefe M, Allen JP. Shape analysis for classification of malignant melanoma. *J Biomed Eng* 1992;14(3):229-34.
50. Rubegni P, Ferrari A, Cevenini G, et al. Differentiation between pigmented Spitz naevus and melanoma by digital dermoscopy and stepwise logistic discriminant analysis. *Melanoma Res* 2001;11(1):37-44.
51. Levy JL, Trelles M, Servant JJ, Agopian L. Non-ablative skin remodeling: an 8-month clinical and 3D in vivo profilometric study with an 810 nm diode laser. *J Cosmet Laser Ther* 2004;6(1):11-5.
52. Fournier N, Dahan S, Barneon G, et al. Nonablative remodeling: a 14-month clinical ultrasound imaging and profilometric evaluation of a 1540 nm Er:Glass laser. *Dermatol Surg* 2002;28(10):926-31.
53. Saur R, Schramm U, Steinhoff R, Wolff HH. [Structure analysis of the skin surface using computer-assisted laser profilometry. New method for the quantitative assessment of roughness structure of the skin]. *Hautarzt* 1991;42(8):499-506.

PERSPECTIVAS

O fundamento da análise de imagem digital reside na capacidade de filtragem e quantificação das impressões visuais empregando ferramentas matemáticas e computacionais, resultando na redução do ruído e destaque das informações contidas nas imagens.

A constatação visual e tátil da melhora da textura da pele imediatamente após o uso do creme com propriedades hidratantes foi a variável dependente escolhida para validação do método fotográfico e de análise nesse estudo.

Ao passo que o creme utilizado apresentava cosmética suave e poder hidratante modesto frente aos potentes hidratantes do mercado, foi propositalmente escolhido para que o sistema pudesse testar sua sensibilidade diante de mudanças mais discretas na textura da pele, assim, tornando-o mais verossímil para o uso em pesquisas de campo.

A adequada identificação da mudança dos índices de complexidade frente à hidratação imediata sugere que o sistema seja também capaz de identificar alterações cutâneas decorrentes de hidratação mais potente, contudo, é necessário um estudo controlado para constatar essa alusão.

Da mesma forma, alterações identificáveis na hidratação da pele normal ou xerótica podem não representar as mesmas modificações fisiológicas causadas por outros produtos, tópicos ou não, como retinóides, alfa-hidroxiácidos, corticosteróides, anti-oxidantes; ou mesmo o comportamento da pele afetada por diferentes doenças, como psoríase, eczemas e ictioses.

Estudos posteriores devem ser conduzidos no sentido de compreender o perfil desses índices diante de diferentes regimes terapêuticos, e em diferentes dermatoses.

A quantificação de resultados visuais ou tácteis é outro elemento favorável ao desenvolvimento desse método, afinal, apresenta a possibilidade de se correlacionar com as melhoras sensitivas da pele do paciente, repercutindo diretamente no impacto do tratamento a sua qualidade de vida.

Métodos profilométricos convencionais analisam áreas bastante menores da pele, e alterações subclínicas (linhas terciárias e quaternárias invisíveis) dos tratamentos.

Provavelmente, alterações nesse nível de ampliação são mais facilmente identificáveis pelo sistema, porém, sua repercussão clínica pode não ser percebida tão claramente em curto prazo.

Estudos devem ser conduzidos posteriormente, comparando a avaliação clínica da qualidade de vida, ou mesmo a percepção visual ou táctil da sua pele com os índices descritos nesse estudo, permitindo uma validação clínica dos parâmetros testados.

Da mesma forma, a comparação do comportamento dos índices descritos nesse estudo com índices advindos de outros métodos profilométricos avaliados frente a um mesmo tratamento, ainda que avaliem escalas diferentes de sulcos, contribuiria na definição dos potenciais analíticos do sistema desenvolvido.

Em tempo, a comparação do desempenho do sistema de fotografia microscópica com outros métodos histopatológicos, imunohistoquímicos e fisiológicos é essencial e deve revelar outras propriedades analíticas do método descrito.

No presente estudo, foram selecionados pacientes de faixa etária e fototipos restritos a fim de minimizar variáveis para validação e desenvolvimento do método.

No entanto, em estudos posteriores, a pesquisa deve ser ampliada para a

investigação em outras idades, fototipos, e ainda no sexo masculino, ampliando sua gama utilitária.

Outras topografias corporais, como áreas não fotoexpostas, devem ser avaliadas a fim de expandir sua aplicabilidade na avaliação do envelhecimento intrínseco.

A determinação de uma escala etária também deve ser objeto de estudos futuros, entretanto, a qualidade intrínseca da pele pode não ser reflexo direto apenas da idade dos voluntários.

Embora a avaliação do quadriculado da pele não possa estimar com precisão a idade, os autores reconhecem que a textura da pele possa ser bem representada pelos índices descritos, já que mostraram capacidade de discriminação entre antebraços contralaterais da mesma pessoa, mas, com qualidades texturais diferentes, provavelmente, secundárias à atividade profissional e a mão dominante.

É certo que a micro topografia de pele sofra influências externas individuais além da idade, como o sexo, tabagismo, tipo de atividade profissional, lazer, cuidado com a pele, e, provavelmente, até condição sócio-econômica.

O aumento no número de variáveis exploratórias, incluindo dados epidemiológicos, e a padronização de grupos de diferentes idades e fototipos devem contribuir para buscar correlação e predição etária em modelos multivariados.

Processamentos de imagem que salientem os sulcos secundários de forma separada à análise dos sulcos primários podem também contribuir na estimativa etária, já que aqueles tendem a se atenuar com a idade; mas também na identificação da qualidade de hidratação da camada córnea.

A micro topografia da pele guarda correlação também com a espessura da camada córnea. Dessa forma, o uso de medicamentos sistêmicos ou tópicos que

diminuem a proliferação celular e alteram a composição da camada córnea em doenças como psoríase e as ictioses, por exemplo, alteram de forma visível a superfície da pele. Pode-se tentar quantificar essa resposta com o método de análise digital, ampliando sua utilização na área da pesquisa e acompanhamento clínico.

Aparelhos ópticos de captura fotográfica microscópica podem ser desenvolvidos e atrelados a sistemas computacionais de análise direta (sem processamento posterior) da superfície da pele. A construção de aparelhos e desenvolvimento de *softwares* dedicados visam a minimização de variáveis interferentes no processo de captura, análise e transferência de fotografias, além de possibilitarem o registro de patentes.

Enfim, o emprego de séries de processamentos e de filtragem incorre na transformação da imagem bruta em um resultado numérico extremamente dependente dos parâmetros e a ordem dos processos utilizados.

O método validado pode ser aperfeiçoado em função da implementação de outras rotinas, filtros ou parâmetros de processamento das imagens, revelando-se terreno fértil para perpetuação da pesquisa.

Ao passo que se quantifiquem as alterações visuais da superfície da pele, a pesquisa dermatológica deve progredir mais rapidamente, com resultados objetivos e reprodutíveis. A partir disso, podem-se gerar alternativas terapêuticas eficientes e de resultados mais previsíveis e notáveis para os pacientes.

Anexo I

Glossário de termos técnicos:

Anisotropia – mede o grau de desordem de uma imagem a partir da intensidade dos sulcos, de acordo com profundidade e orientação dos vetores formados pelas linhas.

Contraste - mede a quantidade de variação local de níveis de cinza em uma determinada imagem. É um dos componentes do *GLCM*.

Correlação - medida da linearidade de dependência de tons de cinza em uma imagem. É um dos componentes do *GLCM*.

Diferença do momento inverso - mede a concentração dos valores dos *pixels* na diagonal da matriz de co-ocorrência, tendo, nesse caso, valor máximo. Isso significa que tons de cinza de valores iguais, separados por uma distância d , existem em uma grande quantidade. É um dos componentes do *GLCM*.

Dimensão Fractal - medida de complexidade de uma estrutura. Um fractal ou uma estrutura fractal é por definição uma estrutura na qual, partes da mesma, se assemelham ao todo, ou seja, existem partes auto-similares, dentro da estrutura global. Estima o quão homoganeamente preenchido está o espaço em uma imagem esqueletonizada.

Entropia – Representa o grau de desordem de um sistema. Em fotografia digital, é a medida dos graus de dispersão dos níveis de cinza dos *pixels* de uma imagem, fornecendo informações sobre a falta de homogeneidade da mesma. É um dos componentes do *GLCM*.

FFT (*Fast Fourier Transform*) - algoritmo computacional de uso em análise de

imagem onde os valores de *pixels* são uma distribuição de dados discretos, permitindo a composição de diagramas representativos da imagem na dimensão da frequência. Conceitualmente, define que qualquer fenômeno de natureza periódica pode ser decomposto em uma série infinita de funções senoidais, com amplitudes variáveis e frequências múltiplas. A FFT de uma imagem é muito utilizada, pois dela pode ser obtida praticamente toda a informação contida na imagem espacial e que, em condições normais, não é trivialmente visível. São usadas para filtrar em geral imagens de estruturas periódicas. Erros sistemáticos, ruídos ou perturbações podem ser corrigidos com filtros de frequência a partir das FFT.

GLCM (*Gray Level Co-occurrence Matriz*) - é o método mais comumente utilizado para medir a textura de superfícies. Baseia-se na análise de imagens e extração de suas características através da relação entre os níveis de cinza dos *pixels* e seus vizinhos, operações chamadas de “segunda ordem”. É composto por cinco índices: *Entropia, Segundo momento angular, Correlação, Contraste e Diferença do momento inverso.*

JPEG - é a sigla em inglês de *Joint of Photographers Expert Group*. Sistema de compactação de imagens digital empregado comumente no armazenamento de fotografias digitais.

LED - é a sigla em inglês para *Light Emitting Diode*, um dispositivo semicondutor emissor de luz. O LED (diodo emissor de luz), como o próprio nome já diz, é um diodo (junção P-N) que quando energizado emite luz visível. A luz é monocromática e é produzida pelas interações energéticas dos elétrons.

Pixel - aglutinação do termo: *Picture* e *Element*, ou seja, elemento da imagem. *Pixel* é o menor ponto que forma uma imagem digital, sendo que o conjunto de milhares

de *pixels* formam a imagem inteira. Cada *pixel* assume uma posição determinada e uma intensidade de brilho, que depende do modelo de cor utilizado. Uma imagem digital pode ser representada pela matriz de seus *pixels*, permitindo operações matemáticas diretas com esses valores, ou de grupos de *pixels*, fundamentando os processos de análise de imagem digital.

Profilometria - método utilizado para mensurar a rugosidade e topografia de determinadas superfícies (rochas, metais, pele), com o objetivo de identificar suas irregularidades e defeitos, caracterizando-as.

Ra - medida de rugosidade da superfície. Média aritmética dos desvios da base.

Rku - medida de rugosidade da superfície. Curtose das medidas.

Rp - medida de rugosidade da superfície. Altura da maior proeminência.

Rq - medida de rugosidade da superfície. Raiz quadrada dos quadrados dos desvios da base.

Rsk - medida de rugosidade da superfície. Simetria das medidas em relação à base.

Rt - medida de rugosidade da superfície. Amplitude total do sistema ($Rv + Rp$).

Rv - medida de rugosidade da superfície. Profundidade do sulco mais intenso.


Roughness (rugosidade) - aspereza, rugosidade da imagem. É determinada pelo comportamento topográfico de superfícies (rochas, metais, pele), sendo o método de análise numérica mais empregado pelos sistemas de profilometria. É composto por sete índices: *Ra*, *Rq*, *Rsk*, *Rku*, *Rp*, *Rv* e *Rt*.

Segundo momento angular - medida da homogeneidade local dos *pixels* adjacentes. Quanto mais homogênea uma imagem, menores as transições de níveis de cinza.

sRGB - Sistema de cores com indexação.

Anexo II

Aprovação do projeto no Comitê de Ética e Pesquisa

 **Universidade Estadual Paulista**
Faculdade de Medicina de Botucatu 

Distrito Rubião Junior, s/nº - Botucatu - S.P.
CEP: 18.618-970
Fone/Fax: (0xx14) 3811-6143
e-mail secretaria: capellup@fmb.unesp.br

 Registrado no Ministério da Saúde em 30 de abril de 1997

Botucatu, 04 de dezembro de 2.006 OF.588/2006-CEP

Ilustríssimo Senhor
Prof. Dr. Hélio Amante Miot
Departamento de Dermatologia da
Faculdade de Medicina de Botucatu

Prezado Dr. Hélio,

De ordem da Senhora Coordenadora deste CEP informo que o Projeto de Pesquisa "Emprego da fotografia digital para avaliação da topografia microscópica da pele", a ser conduzido por Larissa Marília Chambô Cordaro, orientada por Vossa Senhoria, recebeu do relator parecer favorável, aprovado em reunião de 04/12/2006.

Situação do Projeto: APROVADO:

- Ao término deste projeto, apresentar ao CEP Relatório Final de Atividades.*

Atenciosamente,


Alberto Santos Capelluppi
Secretário do CEP.

Anexo III

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(TERMINOLOGIA OBRIGATÓRIA EM ATENDIMENTO A RESOLUÇÃO 196/96 –CNS-MS)

Você foi atendido no ambulatório geral de dermatologia da Unesp devido a um problema de pele e recebeu uma proposta de participar de um projeto de pesquisa em fotografia digital.

A pesquisa chamada “**Emprego da fotografia digital na avaliação da topografia microscópica da pele**” pretende estudar a superfície da pele a partir da fotografia digital.

A pesquisa consta apenas de algumas fotografias do seu antebraço após delimitação do local com fita adesiva e limpeza com álcool 70^º, garantindo que seu nome, ou sua doença não sejam divulgados, sendo cada paciente identificado por um código.

Caso você não queira participar da pesquisa, é seu direito e isso não vai interferir com o seu tratamento ou a preferência de agendamento médico.

Caso você precise de orientação, ou auxílio médico decorrente do atendimento nesse ambulatório, deve procurar o responsável pela pesquisa, Dr. Hélio Amante Miot, no ambulatório de dermatologia da Unesp Botucatu, fone (14) 3811-6167

CONCORDO EM PARTICIPAR DA PESQUISA

Nome do paciente:..... Assinatura:.....

Prof. Hélio Amante Miot

Data:...../...../.....

Assinatura:.....

Orientador: Hélio Amante Miot, Rua Manoel Fernandes Cardoso, 690, casa 14. Fone: (14)3882-4922. E-mail: heliomiot@uol.com.br. Pesquisador(a): Larissa Marília Chambô Cordaro, Av Mário Ranieri, 4-45, casa I-18. Fone: (14) 3236-1994. E-mail: lmchambo@hotmail.com.

Anexo IV

Macros do ImageJ 1.41x para automatização da análise digital

1. Experimento 1

```
macro "Experimento 1 [1]" {
run("Canvas Size...", "width=550 height=550 position=Center zero");
run("8-bit");
run("A posteriori shading correction 514 v3", "automatic initial_x=0 initial_y=0
number_of_points_on_x=10 number_of_points_on_y=10 x_degree=2 y_degree=2");
wait(500);
run("Put Behind [tab]");
close();
selectImage(1);
run("Subtract...", "value=256");
imageCalculator("Add", 1, 2);
wait(500);
selectImage(2);
close();
run("Set Measurements...", " mean standard display redirect=None decimal=3");
run("Measure");
}
```

2. Experimento 2

```
macro "Experimento 2 [1]" {
run("Canvas Size...", "width=550 height=550 position=Center zero");
<<***Submacros de filtros de cor***>>
run("A posteriori shading correction 514 v3", "automatic initial_x=0 initial_y=0
number_of_points_on_x=10 number_of_points_on_y=10 x_degree=2 y_degree=2");
wait(500);
run("Put Behind [tab]");
close();
selectImage(1);
run("Subtract...", "value=256");
imageCalculator("Add", 1, 2);
wait(500);
selectImage(2);
close();
}
```

Submacros:

Gray

```
run("8-bit");
```

Red

```
run("RGB Stack");
run("A posteriori shading correction 514 v3", "automatic initial_x=0 initial_y=0
number_of_points_on_x=10 number_of_points_on_y=10 x_degree=2 y_degree=2");
run("Put Behind [tab]");
```

```
close();
selectImage(1);
run("Subtract...", "stack value=256");
imageCalculator("Add stack", 1, 2);
selectImage(2);
close();
}
```

Green

```
run("RGB Stack");
run("Next Slice [>]");
run("A posteriori shading correction 514 v3", "automatic initial_x=0 initial_y=0
number_of_points_on_x=10 number_of_points_on_y=10 x_degree=2 y_degree=2");
run("Put Behind [tab]");
close();
selectImage(1);
run("Subtract...", "stack value=256");
imageCalculator("Add stack", 1, 2);
selectImage(2);
close();
}
```

Blue

```
run("RGB Stack");
run("Next Slice [>]");
run("Next Slice [>]");
run("A posteriori shading correction 514 v3", "automatic initial_x=0 initial_y=0
number_of_points_on_x=10 number_of_points_on_y=10 x_degree=2 y_degree=2");
run("Put Behind [tab]");
close();
selectImage(1);
run("Subtract...", "stack value=256");
imageCalculator("Add stack", 1, 2);
selectImage(2);
close();
}
```

H

```
run("HSB Stack");
run("A posteriori shading correction 514 v3", "automatic initial_x=0 initial_y=0
number_of_points_on_x=10 number_of_points_on_y=10 x_degree=2 y_degree=2");
run("Put Behind [tab]");
close();
selectImage(1);
run("Subtract...", "stack value=256");
imageCalculator("Add stack", 1, 2);
selectImage(2);
close();
}
```

S

```
run("HSB Stack");
run("Next Slice [>]");
run("A posteriori shading correction 514 v3", "automatic initial_x=0 initial_y=0
number_of_points_on_x=10 number_of_points_on_y=10 x_degree=2 y_degree=2");
run("Put Behind [tab]");
```

```
close();
selectImage(1);
run("Subtract...", "stack value=256");
imageCalculator("Add stack", 1, 2);
selectImage(2);
close();
}
```

B

```
run("HSB Stack");
run("Next Slice [>]");
run("Next Slice [>]");
run("A posteriori shading correction 514 v3", "automatic initial_x=0 initial_y=0
number_of_points_on_x=10 number_of_points_on_y=10 x_degree=2 y_degree=2");
run("Put Behind [tab]");
close();
selectImage(1);
run("Subtract...", "stack value=256");
imageCalculator("Add stack", 1, 2);
selectImage(2);
close();
}
```

X

```
run("Color Space Converter", "from=RGB to=XYZ white=D65 separate");
close();
close();
selectImage(1);
close();
```

Y

```
run("Color Space Converter", "from=RGB to=XYZ white=D65 separate");
close();
run("Put Behind [tab]");
run("Put Behind [tab]");
close();
selectImage(1);
close();
```

Z

```
run("Color Space Converter", "from=RGB to=XYZ white=D65 separate");
run("Put Behind [tab]");
close();
run("Put Behind [tab]");
close();
selectImage(1);
close();
```

L*

```
run("Color Space Converter", "from=RGB to=LAB white=D65 separate");
run("8-bit");
run("Put Behind [tab]");
close();
run("Put Behind [tab]");
close();
```

```
run("Put Behind [tab]");  
close();
```

a*

```
run("Color Space Converter", "from=RGB to=LAB white=D65 separate");  
selectImage(1);  
close();  
selectImage(1);  
close();  
selectImage(2);  
close();
```

b*

```
run("Color Space Converter", "from=RGB to=LAB white=D65 separate");  
selectImage(1);  
close();  
selectImage(1);  
close();  
selectImage(1);  
close();
```

3. Experimentos 3 e 4

Desvio padrão:

```
macro "Experimento 3 DP [1]" {  
  setBatchMode(true);  
  run("Canvas Size...", "width=550 height=550 position=Center zero");  
  run("8-bit");  
  run("A posteriori shading correction 514 v3", "automatic initial_x=0 initial_y=0  
  number_of_points_on_x=10 number_of_points_on_y=10 x_degree=2 y_degree=2");  
  wait(500);  
  run("Put Behind [tab]");  
  close();  
  selectImage(1);  
  run("Subtract...", "stack value=256");  
  imageCalculator("Add stack", 1, 2);  
  selectImage(2);  
  close();  
  run("Bandpass Filter...", "filter_large=5 filter_small=0 suppress=None tolerance=5 autoscale  
  saturate");  
  run("Median...", "radius=3");  
  wait(500);  
  run("Set Measurements...", " mean standard display redirect=None decimal=3");  
  run("Measure");  
  String.resetBuffer;  
  String.copyResults;  
  run("Open Next");  
}
```

Fração de área:

```
macro "Experimento 3 AF [2]" {  
  setBatchMode(true);  
  run("Canvas Size...", "width=550 height=550 position=Center zero");  
  run("8-bit");
```

```

run("A posteriori shading correction 514 v3", "automatic initial_x=0 initial_y=0
number_of_points_on_x=10 number_of_points_on_y=10 x_degree=2 y_degree=2");
wait(500);
run("Put Behind [tab]");
close();
selectImage(1);
run("Subtract...", "stack value=256");
imageCalculator("Add stack", 1, 2);
selectImage(2);
close();
run("Bandpass Filter...", "filter_large=5 filter_small=0 suppress=None tolerance=5 autoscale
saturate");
run("Median...", "radius=3");
wait(200);
run("Make Binary");
run("Invert");
run("Set Measurements...", " area_fraction display redirect=None decimal=3");
run("Measure");
String.resetBuffer;
String.copyResults;
run("Open Next");
}

```

Dimensão fractal:

```

macro "Experimento 3 FRACT [3]" {
setBatchMode(true);
run("Canvas Size...", "width=550 height=550 position=Center zero");
run("8-bit");
run("A posteriori shading correction 514 v3", "automatic initial_x=0 initial_y=0
number_of_points_on_x=10 number_of_points_on_y=10 x_degree=2 y_degree=2");
wait(500);
run("Put Behind [tab]");
close();
selectImage(1);
run("Subtract...", "stack value=256");
imageCalculator("Add stack", 1, 2);
selectImage(2);
close();
run("Bandpass Filter...", "filter_large=5 filter_small=0 suppress=None tolerance=5 autoscale
saturate");
run("Median...", "radius=3");
wait(200);
run("Make Binary");
wait(200);
run("Invert");
run("Skeletonize");
wait(200);
run("Fractal Box Count...", "box=1,2,4,8,16,32,64,128,256,512,1024");
wait(200);
String.resetBuffer;
String.copyResults;
close();
run("Open Next");
}

```

GLCM:

```

macro "Experimento 3 GLCM [4]" {
setBatchMode(true);

```



```

run("Canvas Size...", "width=550 height=550 position=Center zero");
run("8-bit");
run("A posteriori shading correction 514 v3", "automatic initial_x=0 initial_y=0
number_of_points_on_x=10 number_of_points_on_y=10 x_degree=2 y_degree=2");
wait(200);
run("Put Behind [tab]");
close();
selectImage(1);
run("Subtract...", "stack value=256");
imageCalculator("Add stack", 1, 2);
wait(200);
selectImage(2);
close();
run("Bandpass Filter...", "filter_large=5 filter_small=0 suppress=None tolerance=5 autoscale
saturate");
run("Median...", "radius=3");
wait(500);
run("GLCM Texture", "enter=5 select=[0 degrees] angular contrast correlation inverse entropy");
wait(200);
String.resetBuffer;
String.copyResults;
run("Open Next");
}

```

Roughness:

```

macro "Experimento 3 RO [5]" {
setBatchMode(true);
run("Canvas Size...", "width=550 height=550 position=Center zero");
run("8-bit");
run("A posteriori shading correction 514 v3", "automatic initial_x=0 initial_y=0
number_of_points_on_x=10 number_of_points_on_y=10 x_degree=2 y_degree=2");
wait(500);
run("Put Behind [tab]");
close();
selectImage(1);
run("Subtract...", "stack value=256");
imageCalculator("Add stack", 1, 2);
selectImage(2);
close();
run("Bandpass Filter...", "filter_large=5 filter_small=0 suppress=None tolerance=5 autoscale
saturate");
run("Median...", "radius=3");
wait(200);
run("Roughness calculation");
wait(200);
String.resetBuffer;
String.copyResults;
run("Open Next");
}

```