

AVALIAÇÃO DO DANO MUSCULAR TEMPORÁRIO PELA QUANTIFICAÇÃO DA TEXTURA EM ULTRASSONOGRÁFIAS

T. T. Matta*, W. C. Pereira*, R. Radaelli**, R. S. Pinto**, G. F. Rainho* e L. F. Oliveira*.

*Universidade Federal do Rio de Janeiro – Programa de Engenharia Biomédica, Rio de Janeiro, Brasil.

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Laboratório de Pesquisa do Exercício, Porto Alegre, Brasil.

e-mail: ttmatta@peb.ufrj.br

Resumo: A quantificação do dano muscular induzido pelo exercício pode ser realizada de diversas formas. A análise de parâmetros de textura de ultrassonografias pode ser uma estratégia de avaliação do dano muscular local, e ainda não foi encontrado na literatura. O objetivo do estudo é acompanhar as alterações temporais da textura e intensidade do eco de ultrassonografias do músculo Braquial. Treze mulheres jovens realizaram duas séries de flexões excêntricas de cotovelo. Ultrassonografias foram realizadas antes, 48h, 72h e 96h após o exercício. Foram analisados cinco parâmetros entropia, segundo momento angular, desvio padrão, contraste e correlação (*coo*, *asm*, *std*, *con* e *cor*, respectivamente) extraídos da matriz de co-ocorrência (GLCM) da região de interesse (dimensão 25 x 25 pixels). Foram encontradas diferenças significativas para a intensidade do eco e todos os parâmetros da matriz de co-ocorrência em 72h quando comparados à avaliação previa, com exceção do *con*. Para a intensidade do eco e *coo* as variações foram observadas desde 48h até 96h. A intensidade do eco é usada em estudos aplicados, entretanto a sua análise em pequenas ordens e deficiência na avaliação espacial da região de interesse são limitações da técnica. A análise dos parâmetros da GLCM da textura parece ser uma ferramenta útil no auxílio como mais uma forma de avaliação do dano muscular temporário. Estudos adicionais devem analisar o desempenho de parâmetros associados, assim como variações do número de níveis de cinza e tamanho das regiões de interesse.

Palavras-chave: Ultrassonografia, textura, matriz de co-ocorrência, intensidade do eco, músculo.

Abstract: *Quantification of muscle damage caused by physical exercises can be performed by many techniques. Texture parameters analysis of ultrasound images may be a strategy for local muscle damage assessment, which has not been related in literature. The aim of the present study is to analyze the temporal changes of the texture and echo intensity on ultrasound images of Brachialis muscle. Thirteen young women performed two sets of eccentric actions of the elbow*

flexors. Ultrasound images were acquired at baseline, 48h, 72h and 96h after exercise. Five co-occurrence matrix parameters entropy, second angular moment, standard deviation, contrast and correlation (coo, asm, std, con e cor, respectively) and echo intensity were calculated on a region of interest (ROI) of 25 x 25 pixels. Significant differences in echo intensity and all co-occurrence matrix parameters were observed when compared to baseline, except for the parameter con. Variations were observed for echo intensity and coo for 48h and 96h. The echo intensity are commonly used in applied studies, however the small order analysis and impaired spatial assessment of the region of interest must be considered technical limitations, The co-occurrence matrix analysis seems to be an useful tool of assessing muscle damage. Additional studies must include the evaluation performance for associated parameters as well as for different number of grey levels and ROI sizes.

Keywords: *Ultrasonography, texture, co-occurrence matrix, echo intensity, muscle.*

Introdução

Ruptura e desorganização de estruturas musculares no sarcômero durante uma sessão de exercício são consequências de uma cascata de eventos fisiológicos [1, 2]. Durante a realização do exercício a tensão gerada nas proteínas contráteis, principalmente decorrente das contrações excêntricas, resulta no fenômeno conhecido como dano muscular temporário (DMT) sendo que seus sintomas podem perdurar por até sete dias após a realização do exercício [1].

Uma das formas de avaliação do DMT local é a análise da deformação do tecido muscular pelas ultrassonografias e pelo extravasamento de proteínas musculares na corrente sanguínea [1, 3]. Assim, a imagem apresenta estruturas hiperecóticas que são geralmente quantificadas pelas variações na média da intensidade do eco (IE) a partir do histograma de distribuição de *pixels* da escala de cinza na região de interesse (ROI) [4, 5]. Esta técnica apresenta limitações

importantes como a quantificação média do tom de cinza sem localizar na ROI escolhida, além das variações de tons de cinza dentro da ROI. Porém, outras estratégias mais complexas e robustas de avaliação de ultrassonografias poderiam ser aplicadas. Neste sentido, a avaliação da textura da imagem em outros tecidos biológicos já foi usada como fatores auxiliares no diagnóstico [6, 7].

A avaliação da textura da imagem se baseia na caracterização da variação espacial na intensidade dos *pixels*, que pode ser quantificada por abordagens estatísticas, como por exemplo, através da Matriz de Co-ocorrência dos níveis de cinza (GLCM), Curva de Complexidade (CC), Markoviano entre outros [7, 8]. Sendo assim, o objetivo do estudo é avaliar o potencial dos parâmetros de textura na caracterização ultrassonográfica das alterações temporais do músculo Braquial, um dos flexores do cotovelo, causadas por uma sessão de treinamento resistido de alta intensidade durante cinco dias.

Materiais e métodos

A amostra foi composta por treze mulheres jovens saudáveis sem experiência em exercícios de força ($21,03 \pm 2,03$ anos, $60,03 \pm 10,9$ kg e $162,1 \pm 5,8$ cm). As voluntárias foram informadas e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido aprovado pela *University Institutional Review Board* antes do início do experimento.

O exercício para indução do DMT dos flexores de cotovelo foi realizado no dinamômetro isocinético (Cybex Norm, EUA). No primeiro dia de visita, as voluntárias realizaram a sessão de treinamento excêntrico, constituído por duas séries de 10 contrações excêntricas máximas de flexão de cotovelo avelocidade angular de 30°/s e 100° de amplitude articular. Antes do teste, as voluntárias realizavam 15 flexões cotovelo concêntricas e três excêntricas submáximas como forma de aquecimento e familiarização com o dinamômetro e o exercício.

Foram realizadas quatro aquisições de imagens ultrassonográficas por voluntárias, em diferentes momentos (pré, 48h, 72h e 96h) após a sessão de treinamento. As imagens foram adquiridas em modo-B utilizando um aparelho de ultrassom (Toshiba, Japão) com um transdutor linear de frequência de 7,5 MHz coberto por um gel a base de água, posicionado perpendicular ao músculo avaliado e a oito centímetros acima da articulação do cotovelo dominante [4]. Todas as configurações do aparelho foram mantidas até o término do experimento. As imagens foram realizadas com os braços das voluntárias apoiados no suporte usado durante o exercício, com o cotovelo estendido e em supinação [9].

Para análise da textura das ultrassonografias, foi usada a GLCM implementada em rotina em Matlab [7]. A região de interesse (ROI) de 25 x 25 pixels foi adotada para análise do músculo braquial (Figura 1).



Figura 1: Imagem ilustrativa da ROI para análise da textura da ultrassonografia dos flexores do cotovelo.

As variáveis de GLCM que foram utilizados:

- 1) Entropia (*coo*)

$$coo = \sum_{i,j} m^2(i,j) \cdot \log[m^2(i,j)]$$

- 2) Segundo momento angular (*asm*)

$$asm = \sum_{i,j} p(i,j)^2$$

- 3) Desvio Padrão (*std*)

$$std = \sqrt{1/G^2} \sum_{i,j} (p(i,j) - \bar{p})^2$$

onde G é o número de níveis de cinza presentes na imagem e m o valor médio da matriz $m(i,j)$.

- 4) Contraste (*con*)

$$con = \sum_{i,j} (i-j)^2 \cdot p(i,j)$$

- 5) Correlação (*cor*)

$$cor = \frac{\sum_{i,j} i \cdot j \cdot m(i,j) - \bar{m}_x \bar{m}_y}{\sqrt{\sigma_x \cdot \sigma_y}}$$

Onde

$$\begin{aligned} \bar{m}_x &= \sum_i i * \left(\sum_j m(i,j) \right)_{i=0, \dots, G-1} \text{ e } \bar{m}_y \\ &= \sum_j j * \left(\sum_i m(i,j) \right)_{j=0, \dots, G-1} \end{aligned}$$

$$\sigma_x^2 = \sum_i \left(\sum_j m(i,j) \right)_{i=0, \dots, G-1} * (i - \bar{m}_x)^2 \text{ e}$$

$$\sigma_y^2 = \sum_j \left(\sum_i m(i,j) \right)_{j=0, \dots, G-1} * (j - \bar{m}_y)^2$$

As variáveis das equações da GLCM estão representadas abaixo:

$m(i,j)$ – matriz de co-ocorrência (função), onde i e j são valores de nível de cinza de dois *pixels* quaisquer;

G – Nível de cinza máximo em uma imagem;

σ – Desvio Padrão

A mesma ROI da análise da textura da imagem foi usada para quantificar a IE pela média do histograma de escala de cinza variando entre 0 e 255 (0, preto; e 255, branco) através de um aplicativo de domínio público (ImageJ 1.43u, National Institute of Health, Bethesda, MD, EUA), semelhante às medidas realizadas por Radaelli et al. [5].

Como procedimento estatístico, foi realizado o teste *Shapiro-wilk* para verificar normalidade. Para comparação entre os quatro instantes, (pré, 78h, 72h e 96h) foi realizada ANOVA com medidas repetidas paratodos os parâmetros da GLCM e IE. O post-hoc *HSD Tukey* foi realizado para identificar as possíveis diferenças. Foi adotado 5% como o índice de significância ($\alpha = 0,05$). O teste estatístico foi realizado com auxílio do pacote GraphPad Prism 5.0 (Graphpad software inc., EUA).

Resultados

A Figura 2 representa a GLCM como forma de avaliação que foi usada para determinação de cada parâmetro. Onde a cor vermelha representa o maior número de ocorrências de pares de pixels iguais.

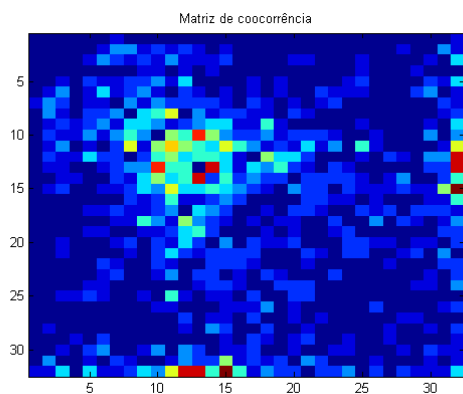


Figura 2: Imagem ilustrativa da Matriz de Co-ocorrência usada no presente estudo.

Os resultados de variações relativas de GLCM e IE estão representados na Figura 3. Foram encontradas diferenças significativas para todos os parâmetros em 72h quando comparados à avaliação previa, com exceção de *con*. Para IE e *coo* as variações foram observadas desde 48h até 96h.

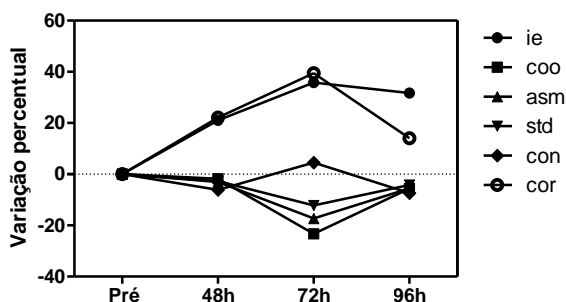


Figura 3: Representação da variação percentual média de cada parâmetro analisado.

Discussão

A literatura vem documentando relação causal entre o DMT e a alteração em imagens obtidas por ultrassonografias após alguns dias da realização de exercícios de força [2, 3]. Os principais resultados do presente estudo mostram alterações significativas nas variáveis extraídas da ultrassonografia após 72h da realização da intervenção, exceto para o contraste. Para a IE, as alterações significativas foram observadas após a intervenção desde 48h até 96h. Embora a amostra tenha sido composta por mulheres, a resposta das variações temporais das variáveis foi similar à obtida em outro estudo realizado com homens para outros marcadores de DMT como percepção subjetiva de dor e geração de torque dos flexores do cotovelo [10]. A aplicação de análise da média da intensidade do eco baseada no histograma de distribuição de *pixels* na escala de cinza seguiu a tendência da literatura de realizar esse tipo de medida na tentativa de adquirir um parâmetro de análise do DMT [4, 5]. Porém, uma das principais propostas do presente estudo é minimizar as limitações dessa técnica de avaliação possui quando aplicadas isoladamente no processamento de imagens. Bharati et al. [11] descrevem que a simples avaliação do histograma gera limitações como análise em pequenas ordens e deficiência na avaliação espacial da ROI [11]. Na tentativa de suprir essas deficiências demonstradas para análise da imagem, foi aplicada a avaliação do DMT através de cinco parâmetros extraídos da GLCM, os resultados encontrados foram compatíveis com os esperados pela resposta de outros marcadores de DMT [5].

A análise pela textura de uma imagem também pode ser caracterizada pela relação estatística ou estrutural entre os *pixels* fornecendo medidas de propriedades [8]. O histograma bidimensional da GLCM representa a reconstrução matricial quadrada pela repetição de diferentes *pixels* agrupados de acordo com a ROI adotada [11]. Assim, a GLCM considera a relação entre dois *pixels* por vez e sua resposta é dependente da quantidade de tons de cinza escolhida. Como o presente estudo é um projeto inicial para avaliação da textura de ultrassonografias, foram escolhidos 32 tons de cinza. A Figura 2 representa a GLCM formada a partir da ROI da imagem original, sendo quantificada pelos parâmetros escolhidos, ou seja, a cor vermelha representa o maior número de ocorrências de pares de pixels iguais. Para quantificar a GLCM, a literatura apresenta cada parâmetro usado caracterizando especificidades da textura [11]. Por exemplo, o *con*, o único parâmetro que se manteve constante nos três momentos após a intervenção, está relacionado à variabilidade da textura, e sua resposta pode ser explicada por outra característica do DMT, o edema local, o que ocasionaria alterações na ROI e consequentemente não gerando alterações significativas, -7,6% em 96h.

Como representado na Figura 3, quanto às variáveis da GLCM que obtiveram variações significativas com a intervenção no tempo, a correlação (*cor*) obteve

comportamento positivo em apenas 72h ($p=0,025$), com variações de aproximadamente 40% após a intervenção, e semelhante à IE pelo histograma de escala de cinza. Estes achados podem estar diretamente relacionados, pois a IE avalia basicamente o brilho em 256 tons de cinza, e a *cor* para GLCM correspondem à dependência local entre os níveis de cinza e assim, valores elevados de *cor* são obtidos para regiões com elevada similaridade entre os níveis de cinza [7]. Essa resposta pode ser visualmente avaliada pelas alterações de brilho nas imagens após alguns dias da intervenção.

Quanto às outras variáveis da GLCM, as alterações também foram observadas em 72h após a intervenção ($p<0,001$ para todas as variáveis). A entropia (*coo*) expressa a aleatoriedade da textura da imagem, e a redução dos valores indica menor distribuição aleatória dos níveis de cinza da GLCM [7], nesse sentido o a semelhança dos resultados da IE estão de acordo com a proposta visual com a imagem mais clara com a instauração do DMT a partir de 48h. O segundo momento angular (*asm*) apresenta a homogeneidade na transição dos níveis de cinza na textura da imagem, com a redução significativa dos valores da *asm* em 72h, pode-se avaliar como padrão irregular com DMT [7]. Já o outro parâmetro da GLCM, o desvio padrão (*std*) apresentou menor grau de espalhamento dos níveis de cinza entre pares de *pixels* em 72h.

Como limitações da atual análise da textura com a GLCM, o presente estudo apresenta alterações no número de *pixels* da matriz pode influenciar os resultados, assim como a direção escolhida para a formação da matriz que, no caso. No presente estudo, foi a vertical, outras direções podem ser aplicadas para análise das imagens. Para uma futura análise da textura, a escolha da média de algumas direções pode ser incluída. A escolha da ROI foi determinada para compreender a maior distância entre a aponeurose superior do músculo braquial e a interface osso-músculo. No presente estudo foram analisados apenas 32 tons de cinza. A análise com mais tons de cinza podem resultar em outros achados. Outras formas de avaliação da textura adicionais podem auxiliar a caracterizar o comportamento das imagens com DMT, como por exemplo, a análise baseada na curva de complexidade, assim como outros direcionamentos do transdutor e músculos com diferentes arquiteturas musculares. A literatura indica cerca de 1500 parâmetros de textura propostos [12].

Conclusão

Este trabalho apresenta uma aplicação de parâmetros quantitativos de textura para caracterizar dano muscular temporário em ultrassonografias musculares. Cinco parâmetros obtidos a partir da GLCM foram avaliados e comparados com a IE que é atualmente utilizada. O parâmetro Entropia mostrou-se o mais promissor isoladamente, com desempenho comparável à IE, usada pela literatura atual. Testes adicionais devem ser feitos para avaliar o desempenho de parâmetros agrupados

assim como a dimensão ótima da ROI e do número de níveis de cinza.

Agradecimentos

Os autores agradecem aos órgãos de fomento a pesquisa CAPES (Fundação de Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e FAPERJ (Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro) pelo aporte financeiro.

Referências

- [1] Friden J, Lieber RL: Eccentric exercise-induced injuries to contractile and cytoskeletal muscle fibre components. *Acta Physiol Scand* 2001, 171(3):321-326.
- [2] Nosaka K, Sakamoto K: Effect of elbow joint angle on the magnitude of muscle damage to the elbow flexors. *Med Sci Sports Exerc* 2001, 33(1):22-29. Pillen S, van Dijk JP, Weijers G, Raijmann W, de Korte CL, Zwartz MJ: Quantitative gray-scale analysis in skeletal muscle ultrasound: a comparison study of two ultrasound devices. *Muscle Nerve* 2009, 39(6):781-786.
- [3] Chen TC, Lin KY, Chen HL, Lin MJ, Nosaka K: Comparison in eccentric exercise-induced muscle damage among four limb muscles. *Eur J Appl Physiol* 2011, 111(2):211-223.
- [4] Radaelli R, Bottaro M, Wilhelm EN, Wagner DR, Pinto RS: Time course of strength and echo intensity recovery after resistance exercise in women. *J Strength Cond Res* 2012, 26(9):2577-2584.
- [5] Huber S, Danes J, Zuna I, Teubner J, Medl M, Delorme S: Relevance of sonographic B-mode criteria and computer-aided ultrasonic tissue characterization in differential/diagnosis of solid breast masses. *Ultrasound Med Biol* 2000, 26(8):1243-1252.
- [6] Alvarenga AV, Pereira WC, Infantosi AF, Azevedo CM: Complexity curve and grey level co-occurrence matrix in the texture evaluation of breast tumor on ultrasound images. *Med Phys* 2007, 34(2):379-387.
- [7] Baheerathan S, Albrechtsen F, Danielsen HE: New texture features based on the complexity curve. *Pattern Recognition* 1999, 32(4):605-618.
- [8] Chapman DW, Newton M, McGuigan MR, Nosaka K: Comparison between old and young men for responses to fast velocity maximal lengthening contractions of the elbow flexors. *Eur J Appl Physiol* 2008, 104(3):531-539.

- [9] Sewright KA, Hubal MJ, Kearns A, Holbrook MT, Clarkson PM: Sex differences in response to maximal eccentric exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2008, 40(2):242-251.
- [10] Bharati MH, Liu JJ, MacGregor JF: Image texture analysis: methods and comparisons. *Chemometrics and intelligent laboratory systems* 2004, 72(1):57-71.
- [11] Gómez W, Pereira W, Infantosi A: Improving classification performance of breast lesions on ultrasonography. *Pattern Recognition* 2014.