

ESTUDO DE MÉTODOS FUZZY APLICADOS AO RECONHECIMENTO DE SPOTS EM IMAGENS ORIUNDAS DE GÉIS DE ELETROFORESE 2D

GEANCARLO SALDANHA MAYDANA¹; MARILTON SANCHOTENE DE AGUIAR²

¹Universidade Federal de Pelotas – gsmaydana@inf.ufpel.edu.br

²Universidade Federal de Pelotas – marilton@inf.ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

O termo proteoma foi introduzido em 1996 para descrever as proteínas expressas em um genoma (WILKINS et al., 1996; ANDERSON; ANDERSON, 1996). A proteômica pode ser vista como uma metodologia de seleção da biologia molecular, a qual tem como objetivo documentar a distribuição geral de proteínas da célula, identificar e caracterizar proteínas individuais de interesse e principalmente elucidar as suas associações e funções.

Em termos de aplicação, a proteômica está presente em diversas áreas de interesse como, por exemplo, na investigação de marcadores moleculares em determinadas doenças indicando a resposta da célula ou tecido a estresses externos (CIERO; BELLATO, 2002).

Atualmente, uma das principais técnicas usadas na proteômica é a eletroforese bidimensional, que é uma técnica de separação de moléculas baseada na migração destas moléculas numa solução, quando aplicado um campo elétrico.

Na primeira etapa do experimento, as proteínas são separadas com base nas diferenças de ponto isoelétrico. A amostra é aplicada em uma fita gelatinosa que possui um gradiente de pH e, em seguida, é submetida a um potencial elétrico. Assim, as proteínas migrarão até que o ponto isoelétrico seja alcançado. Neste ponto, a proteína pára de migrar, ocorrendo então a primeira etapa de separação.

Na etapa seguinte, as proteínas são separadas pela diferença de massa molecular. A fita gelatinosa é anexada a um segundo gel que permitirá a migração destas proteínas na segunda dimensão. Na segunda dimensão, um potencial elétrico é aplicado novamente, mas a um ângulo de 90 graus a partir do primeiro campo. Então, as proteínas são atraídas para o lado mais positivo do gel (ROCHA; SILVA; Sá, 2005). Como resultado deste processo, tem-se um gel com proteínas espalhadas sobre a sua superfície.

Estas proteínas podem ser detectadas por uma variedade de reagentes de revelação. Após a coloração do gel, observa-se um perfil bidimensional de pontos (do inglês, *spots*), sendo que em cada ponto há múltiplas cópias de uma proteína. Por fim, este gel é escaneado e a imagem resultante pode ser processada (ROCHA; SILVA; SÁ, 2005).

As imagens de eletroforese bidimensional podem conter ruídos, bem como partículas de poeira e, até mesmo, rachaduras no gel, e isso pode interferir no resultado final da análise de reconhecimento dos *spots*. A Figura 1 mostra exemplos de imagens de géis oriundas de eletroforese bidimensional que ilustram esse problema. Pode ser observado na Figura 1(b) a presença de uma quantidade considerável de ruído, na forma de borrões, o que torna mais complexa a tarefa de determinar os *spots*. Dadas estas dificuldades, pretende-se

explorar diversas possibilidades de integração entre a lógica fuzzy e algoritmos evolutivos no processo de reconhecimento dos *spots*.

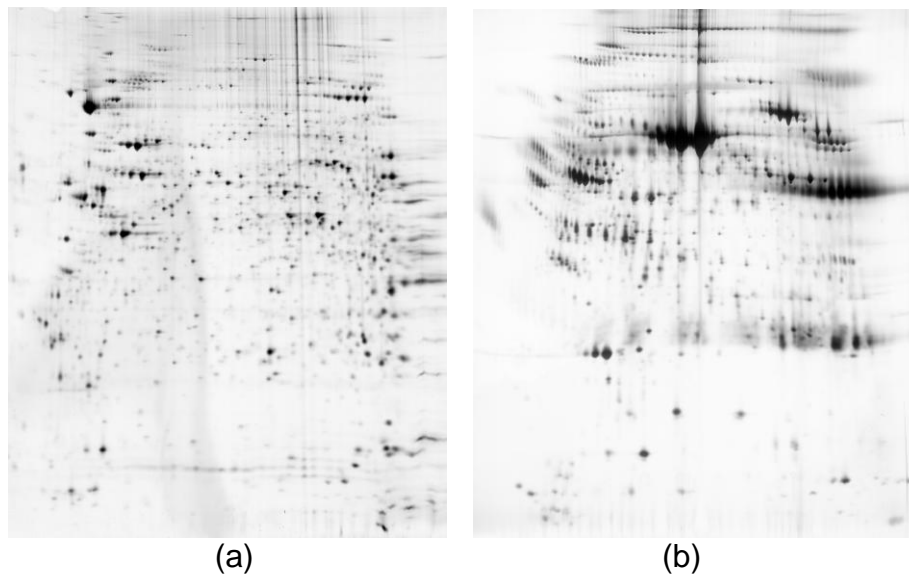


Figura 1: Imagens de géis oriundas de eletroforese bidimensional.

Os conjuntos fuzzy são o modelo mais tradicional para o tratamento de informações vagas e inexatas. Introduzido por Zadeh em (ZADEH, 1965) tem como objetivo permitir um elemento pertencer, com mais ou menos intensidade, a uma dada classe. A representação com conjuntos fuzzy utiliza conjuntos para representar a informação que não é precisa e emprega lógica fuzzy para a tomada de decisão (ZADEH, 1979), provendo um mecanismo para representar e manipular algum tipo de incerteza e ambiguidade. Pode-se observar que os operadores fuzzy e suas propriedades tem várias aplicações principalmente em análise de imagens e reconhecimento de padrões (BLOCH; MAÏTRE, 1993).

Nos últimos anos, aumentou o interesse em aplicações de técnicas de lógica fuzzy do tipo-2 aos problemas onde as técnicas tradicionais de lógica fuzzy (tipo-1) podem não oferecer performance satisfatória. Ao contrário da lógica fuzzy convencional, onde as funções de pertinência são escalares, as funções de pertinência na lógica fuzzy do tipo-2 são também fuzzy e este grau extra de nebulosidade provê um modo mais eficiente de tratar graus maiores de incerteza, que seriam difíceis de tratar com lógica fuzzy convencional (MENDEL, 2001; CASTILLO; MELIN, 2008).

Este trabalho tem por objetivo propor um método evolutivo fuzzy apropriado para o reconhecimento de *spots* em imagens de géis de eletroforese bidimensional. Adicionalmente, pretende-se avaliar as diversas possibilidades de integração de lógica fuzzy com algoritmos evolutivos em contraste aos métodos *crisp* (não-fuzzy) para processamento de imagens oriundas de géis de eletroforese.

2. METODOLOGIA

Em um primeiro momento foi feito um estudo sobre técnicas de processamento de imagens fuzzy e crisp baseado principalmente em (CHI; YAN; PHAM, 1996; VARGAS; BEDREGAL; PALMEIRA, 2011; PAL, 1999). Ainda, um estudo das técnicas usuais para análise de géis de eletroforese bidimensional,

baseando-se em trabalhos como os de (RABILLOUD et al., 2010; DASZYKOWSKI et al., 2009).

A partir destes estudos deve ficar bem clara a diferença entre as técnicas e a aptidão de cada uma para que uma delas possa ser escolhida ou até mesmo adaptada para o problema a ser tratado neste trabalho.

Inicialmente, pretende-se propor um método *crisp* para a análise de géis de eletroforese, que posteriormente será estendido para a um modelo fuzzy. Neste interim, será avaliada a possibilidade de utilização da Lógica Fuzzy tipo-2 agregada da matemática intervalar para o estudo de caso em questão.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O trabalho se encontra na fase de confecção de um modelo *crisp* para a análise de géis de eletroforese e ainda não conta com resultados concretos. Através de interações com pesquisadores do Laboratório de Bioinformática do PPGB (Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia) da UFPel foi possível conseguir um conjunto de imagens de géis de eletroforese para serem utilizadas no projeto. Estas imagens contém os *spots* marcados e estão servindo como ponto inicial para a proposta de um modelo. A Figura 2 mostra um exemplo, onde os pontos em vermelho marcam os *spots* encontrados.

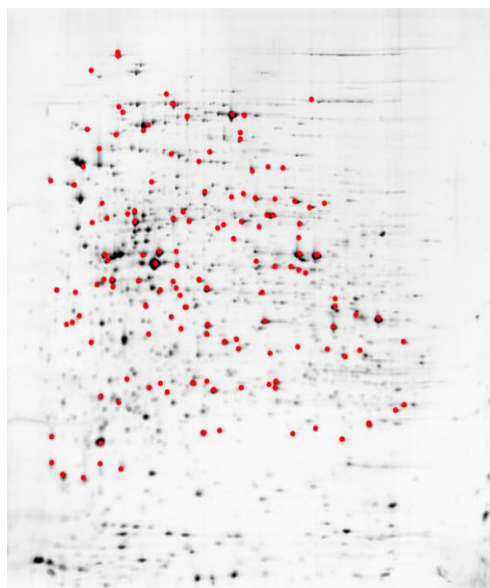


Figura 2: Imagem de gel oriundo de eletroforese com spots marcados.

4. CONCLUSÕES

A principal contribuição do trabalho é prover um estudo de modelos fuzzy para viabilizar o processo de reconhecimento de *spots* em imagens obtidas a partir de géis de eletroforese bidimensionais. Espera-se que o trabalho seja o ponto de partida para pesquisas futuras na área a fim de construir uma ferramenta livre para reconhecimento de *spots*.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, N. G.; ANDERSON, N. L. Twenty years of Two-dimensional electrophoresis: past, present and future. **Electrophoresis**, v.17, p.443–453, 1996.

BLOCH, I.; MAÎTRE, H. Fuzzy mathematical morphology. **Ann. Math. Artif. Intell.**, v.10, p.55–84, 1993.

CASTILLO, O.; MELIN, P. **Type-2 Fuzzy Logic: Theory and Applications**. Berlin, Germany: Springer-Verlag, 2008.

CHI, ZI; YAN, H.; PHAM, T. **Fuzzy Algorithms: With Applications to Image Processing and Pattern Recognition**. World Scientific, Singapore, 1996.

CIERO, L.; BELLATO, C. Proteoma: avanços recentes em técnicas de eletroforese bidimensional e espectrometria de massa. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v.29, p.158–164, 2002.

DASZYKOWSKI, M.; BIERCZYNSKA-KRZYSIK, A.; SILBERRING, J.; WALCZAK, B. **Avoiding spots detection in analysis of electrophoretic gel images**. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 2009.

MENDEL, J. M. **Uncertain Rule-Based Fuzzy Logic Systems: Introduction and New Directions**. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall, 2001.

PAL, S. Fuzzy Models for Image Processing and Applications. In: **INDIAN NATIONAL SCIENCE ACADEMY**, 1999. **Anais**. . . 1999. p.73–90.

RABILLOUD, T.; CHEVALLET, M.; LUCHE, S.; LELONG, C. Two-dimensional gel electrophoresis in proteomics: past, present and future. **Journal of Proteomics**, v.73, p.2064–2077, 2010.

ROCHA, T. L.; SILVA, M. C.; SÁ, M. F. Eletroforese bidimensional e análise de proteomas. **Comunicado Técnico da Embrapa**, v.136, 2005.

VARGAS, R. de; BEDREGAL, B.; PALMEIRA, E. A Comparison between K-Means, FCM and ckMeans Algorithms. In: **THEORETICAL COMPUTER SCIENCE (WEIT), 2011 WORKSHOP-SCHOOL ON**, 2011. **Anais...**, 2011. p.32–38.

WILKINS, M. R.; PASQUALI, C.; APPEL, R. D.; OU, K.; GOLAZ, O.; SANCHEZ, J. C.; JAN, J. X.; GOOLEY, A. A.; HUGHES, E.; HUMOHERY-SMITH, I.; WILLIAMS, K. L.; HOCHSTRASSER, D. F. From proteins to proteomes: large scale protein identification by two-dimensional electrophoresis and amino acid analysis. **Nature Biotechnology**, v.14, p.61–65, 1996.

ZADEH, L. A. Fuzzy Sets. **Information Control**, v.8, p.338–353, 1965.

ZADEH, L. A. A Theory of Approximate Reasoning. **Machine Intelligence**, v.9, 1979.