

ANÁLISE MORFOLÓGICA SEMI-AUTOMÁTICA DE IMAGENS DE FÍGADOS DE RATOS POR PROCESSAMENTO DIGITAL DE IMAGENS E APRENDIZADO DE MÁQUINA

Leandro Eugênio Farias Berton (CNPq), Franklin César Flores (Orientador), Yandre Maldonado e Gomes da Costa (Coorientador). E-mail: ra129268@uem.br, fcflores@uem.br, yandre@din.uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Tecnologia, Maringá, PR.

Ciências Exatas e da Terra / Ciência da Computação

Palavras-chave: YOLO; segmentação; imagens laboratoriais.

RESUMO

A análise de imagens, obtidas por técnicas de microscopia, é uma tarefa essencial no processo de pesquisa em muitos laboratórios, em que, por exemplo, são extraídas características relevantes para análise morfológica e quantitativa. Entretanto, tal tarefa, quando desempenhada manualmente, é demorada, repetitiva e cansativa. Neste trabalho, são desenvolvidas, e testadas, três abordagens para a segmentação semiautomática dos núcleos das células do tecido hepático de ratos Wistar, visando acelerar e facilitar o trabalho de outros pesquisadores. Para tanto, foram exploradas técnicas de processamento de imagem e aprendizado de máquina. Dentre esses métodos, citam-se filtros sequenciais alternados, morfologia matemática, YOLOv8, YOLOv9 e SAM. Assim, três frentes de investigação foram executadas: abordagem puramente matemática (PDI), puramente com aprendizado de máquina (AM) e uma híbrida em relação as duas anteriores (AM + PDI). Após a realização de vários testes, ficou evidente que, em termos de precisão, os métodos apresentaram resultados semelhantes. Dessa forma, a abordagem com morfologia matemática pode ser mais preferida em certas aplicações, devido necessitar baixo poder computacional para a execução. Por fim, seguindo o roteiro, foi desenvolvido um software para o uso no laboratório pelos pesquisadores, chamado SSIL (Segmentador Semiautomático de Imagens Laboratoriais). O programa foi escrito na linguagem de programação Python e utiliza, como biblioteca gráfica, CustomTkinter. Para a construção, buscou-se seguir o padrão MVC (Model View Control) consolidada na Engenharia de Software, bem como alinhar-se com os princípios de uma boa interface, segundo IHC e UX design, tornando o aplicativo intuitivo e de uso agradável.

INTRODUÇÃO

Segundo o Globocan 2022 (IARC – Globocan, 2022), banco de dados virtual que apresenta estatísticas sobre 36 tipos de câncer em seres humanos, em 185 países, gerido pela International Agency for Research on Cancer (IARC), o câncer colorretal é o terceiro maior em número absoluto de incidência (1,92 milhões) e o segundo mais letal, representando cerca de 904 mil mortes. O local mais comum para o espalhamento de metástase distantes é o fígado, ocorrendo em 60% dos casos.

Em análises laboratoriais, muitas vezes faz-se necessário a anotação manual das imagens, como a segmentação de núcleos celulares, a fim de obter dados relevantes para o desenvolvimento do trabalho. Esse é o caso de um grupo de pesquisadores do Laboratório de Plasticidade Neural Entérica (LPNE), da Universidade Estadual de Maringá. Uma das frentes de pesquisa do LPNE é a investigação dos efeitos sistêmicos do Tumor de Walker 256, na qual são processadas imagens do tecido hepático de ratos Wistar, coloridas com H&E (Hematoxilina e Eosina), buscando observar a quantidade de células mononucleadas, binucleadas, bem como área e perímetro dessas, a fim de analisar os efeitos dos experimentos combatentes do câncer colorretal. Essa tarefa se caracteriza como demorada e repetitiva, podendo levar a várias consequências negativas, como a perda da precisão das anotações, devido à fadiga, e até mesmo lesões por esforço repetitivo.

Tendo em vista a problemática apresentada, esse trabalho tem como principal objetivo a proposta de uma solução semiautomática para a segmentação dos núcleos das células do tecido hepático de ratos, fornecendo dados relevantes (quantificação, área, perímetro) para análise morfométrica, realizada no LPNE. Busca-se, então, automatizar o máximo possível essa tarefa de segmentação, a fim de facilitar e agilizar o trabalho dos pesquisadores.

MATERIAIS E MÉTODOS

Utilizou-se o método científico experimental, em que foram estudados e testados procedimentos para a segmentação automática de núcleos celulares.

Dataset

Um pilar indispensável para a aplicação da técnica de Aprendizado de Máquina é o *dataset*, uma vez que esses modelos necessitam de uma ampla base de dados para poderem extrair características relevantes que serão levadas em consideração para a inferência em dados desconhecidos. Diante disso, foram feitas anotações manuais em um conjunto de 230 imagens, provenientes de um banco de imagens compartilhado pelo LPNE, identificando os núcleos e classificando-os em duas classes: células mononucleadas e células binucleadas. A fim de evitar o problema

de *overfitting*, o conjunto de imagens é dividido em cinco subconjuntos, particionados em 40 imagens para teste, 40 para validação e 150 para treino. A partição destinada para o treinamento pode ser ampliada por meio da técnica de *data augmentation*, em que foi aplicado aleatoriamente três efeitos por imagem. Além disso, também foram criados mais dois *datasets* com o propósito de ser o gabarito para os testes de IoU. No primeiro, segmentou-se, manualmente, 15 núcleos de 80 imagens, resultando em 1200 núcleos. No segundo, foram selecionadas aleatoriamente 12 imagens do dataset e foram segmentados todos os núcleos dessas. No total, obteve-se 896 segmentações, que serão usadas em testes estatísticos para a validação da solução aqui proposta.

Processamento Digital de Imagens, YOLO e SAM

Gonzales (2018) foi utilizado como fonte principal de embasamento teórico, focando no capítulo 9, onde os operadores morfológicos são abordados. A YOLO (You Only Look Once) é um modelo de rede neural para detecção de objetos em tempo real, no qual a imagem a ser processada é passada somente uma vez na rede, daí vem o nome característico. Essa arquitetura foi inicialmente apresentada por Joseph Redmon (REDMON et al, 2016). Neste trabalho, é utilizada, primordialmente, a versão 8, oferecida pela Ultralytics e utilizada na plataforma Roboflow. Além disso, também foi experimentado o modelo segmentador SAM (Segment Anything Model) da Meta. Para o treinamento, foi utilizado o ambiente de processamento em nuvem Google Colab.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Devido a limitação de espaço para discussões nesse documento, serão apresentados apenas alguns pontos principais, sendo uma análise mais detalhada feita no relatório final. As redes neurais YOLOv8-X e YOLOv9-E foram treinadas com o *dataset* acima mencionado, e os resultados foram promissores. Quando comparado com as contagens feitas pelos especialistas humanos, o modelo YOLOv8 alcançou uma precisão de 90,4%, já nova versão 92,16%. Também foi executado o Teste-t pareado de duas caudas, a fim de avaliar se há uma relação estatística relevante entre os dois conjuntos (contagem manual e automática). O resultado foi favorável para ambas as versões, isto é, o valor de P resultante da comparação entre a quantificação dos mononucleados automática e manual foi maior que 0.05, reforçando a confiabilidade do método utilizado. Partindo para os resultados das soluções segmentadoras, o resultado do IoU (Intersection over Union), comparando as abordagens desenvolvidas com *ground truth*, foi o seguinte: 0.882, 0.8636 e 0.8823 para as abordagens AM, AM+PDI e PDI, respectivamente. Nota-se que os três métodos são equivalentes entre si quando é avaliado a precisão

por essa métrica. O software desenvolvido foi testado por um dos pesquisadores do LPNE, no qual houve um período de sugestões sobre o que poderia ser melhorado. Além disso, esse projeto colaborou para a escrita de dois artigos que ainda estão no processo de publicação.

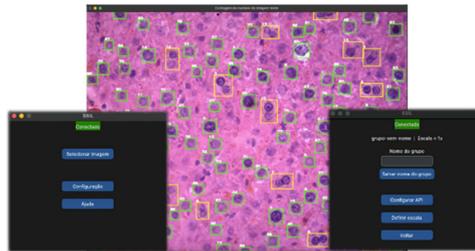


Figura 1 – Interface gráfica do software desenvolvido e resultado de uma inferência.

CONCLUSÕES

Tendo em vista os experimentos realizados nessa pesquisa, pode-se concluir que as três abordagens apresentaram desempenho semelhantes, com um alto nível de precisão e confiabilidade, de acordo com o teste estatístico. Além disso, com o software desenvolvido, os pesquisadores poderão acelerar seus trabalhos e focar mais no objetivo principal da pesquisa, automatizando o trabalho repetitivo, manual e exaustivo que era executado anteriormente.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos orientadores pelos ensinamentos e o CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo auxílio financeiro durante a execução deste trabalho.

REFERÊNCIAS

IARC. **Globocan 2022**: Colorectal Cancer. Disponível em:

<<https://gco.iarc.who.int/today>>. Acesso em: 18 de agosto de 2024.

GONZALES R. C.; WOODS R. E. **Digital Image Processing**, 4th edition. New York: Pearson Education, 2018.

REDMON, Joseph et al. You only look once: Unified, real-time object detection. In: **IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition**, 2016. p. 779-788.