

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

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: segmentação; glicogênio; imagens laboratoriais.

RESUMO

Uma das principais tarefas no processo de pesquisa em laboratórios é a análise de imagens, que, muitas vezes, pode se caracterizar como repetitiva, demorada e cansativa. O presente trabalho, partindo de uma abordagem experimental, apresenta uma solução semiautomática para a quantificação de glicogênio em imagens microscópicas do fígado de ratos Wistar coloridas com PAS (Periodic Acid-Schiff). Para alcançar tal objetivo, técnicas de Processamento Digital de Imagens foram aplicadas, como morfologia matemática, transformações de intensidade e limiarização automática. O método proposto, testado estatisticamente e validado pelos profissionais do LPNE, apresenta uma relevante confiabilidade na quantificação, medida em μm^2 , quando comparado com a execução manual. Dessa forma, a solução se faz interessante por poupar o tempo dos pesquisadores gasto em atividades manuais, além de exigir baixo poder computacional, podendo ser executado em máquinas antigas. O programa foi escrito na linguagem de programação Python, utilizando a biblioteca gráfica PySide6 e as bibliotecas NumPy e scikit-image para o algoritmo segmentador.

INTRODUÇÃO

Segundo o levantamento mais recente da International Agency for Research on Cancer (IARC), o Globocan 2022, que mapeia 36 tipos de câncer em 185 países, o câncer colorretal é o segundo mais letal, com aproximadamente 904 mil mortes, e terceiro maior em número de incidência. Em 60% dos casos, o fígado é o local mais comum para o espalhamento de metástases distantes, se caracterizando como um importante local de estudo. Assim, uma das pesquisas do Laboratório de Plasticidade Neural Entérica (LPNE), da Universidade Estadual de Maringá, busca avaliar o efeito sistêmico do câncer colorretal no fígado. Nesse sentido, 40 indivíduos da espécie *Rattus norvegicus*, da linhagem Wistar, divididos em cinco grupos (C, CR, CQ, CP, CQP) são considerados no experimento, em que imagens

microscópicas, coloridas com PAS (Periodic Acid-Schiff), são capturadas de amostras do lobo direito e esquerdo do fígado.

Na literatura, não foram encontrados materiais que se relacionam diretamente com esse problema, uma vez que a solução utilizada pelo laboratório, até então, é o software Image Pro Plus, da empresa Media Cybernetics, que possui código fechado e apresenta um alto custo de utilização. Dessa forma, o principal objetivo deste trabalho é propor uma solução semiautomática para a segmentação e quantificação do glicogênio, servindo de apoio para a análise colorimétrica no LPNE; agilizando, assim, o trabalho manual desempenhado pelos pesquisadores.

MATERIAIS E MÉTODOS

Utilizou-se o método científico experimental, em que foram estudados e testados procedimentos para a segmentação e quantificação do glicogênio. O *dataset*, fornecido pelo LPNE, se caracteriza como o principal material envolvido nesse trabalho. O estudo realizado no laboratório conta com cinco grupos (C – Controle, CR – Câncer colorretal, CQ – Câncer colorretal tratado com quercetina, CP – Câncer colorretal tratado com probiótico, CQP – Câncer colorretal tratado com quercetina e probiótico) os quais possuem oito animais cada, totalizando 40 animais. Para cada animal, é analisada a quantidade de glicogênio nas amostras do lobo direito e do lobo esquerdo, separadamente, a fim de evidenciar se são impactados de forma diferente. Por esse motivo, tem-se a divisão no *dataset* entre essas duas regiões do fígado.

Para esse conjunto de imagens, as lâminas das amostras foram coloridas pelo método PAS (Periodic Acid-Schiff), que é uma abordagem utilizada para identificar estruturas ricas em carboidratos. Vale notar que esse mesmo órgão também possui outras duas partes (lobo quadrado e lobo caudado) que são investigadas por meio de outras técnicas (estresse oxidativo), mas que não se enquadram no escopo deste trabalho. Idealmente, são feitas 30 capturas microscópicas para cada lobo de cada animal, totalizando 2400 imagens. Entretanto, os pesquisadores do LPNE relataram que, por problemas técnicos, não foi possível fazer a captura de algumas lâminas, ocasionando a falta de algumas imagens.

Assim, o *dataset* real utilizado no trabalho conta com 1950 imagens (960 do lobo direito e 990 do lobo esquerdo). Para a realização dos testes, um subconjunto de 34 imagens, escolhido aleatoriamente, foi considerado para a quantificação manual (geração de máscaras binárias) pelos especialistas do laboratório – parte desse resultado foi utilizado como base de ajuste para o algoritmo proposto e o restante usado como *ground truth*.

A principal fonte teórica para o desenvolvimento do trabalho foi o livro de Gonzales (2018), principalmente os capítulos 6 (Color Image Processing) e 9 (Morphological Image Processing) que abordam as técnicas de morfologia matemática utilizadas para fazer a segmentação dos pixels correspondentes ao glicogênio. Por fim, a linguagem de programação empregada no desenvolvimento do algoritmo segmentador e do software foi Python, considerando, de modo especial as bibliotecas PySide6, scikit-image e NumPy.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

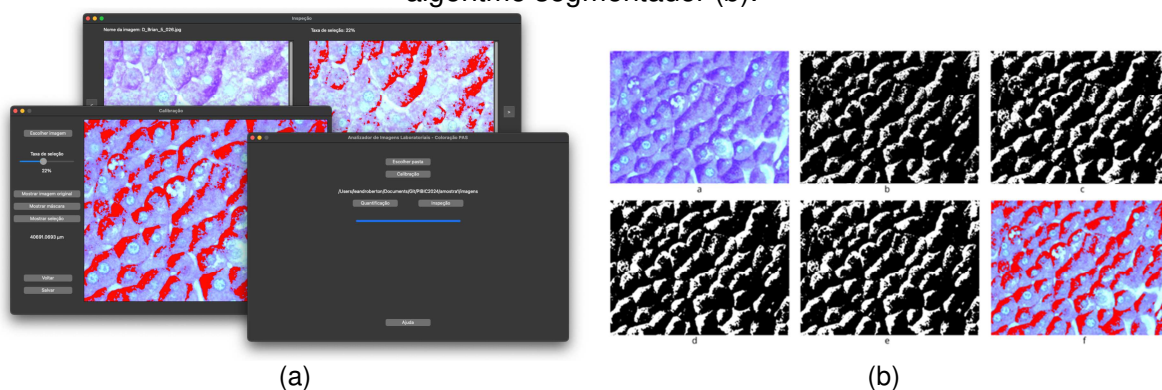
A coloração das imagens utilizadas neste trabalho é diferente da empregada no anterior. Como já explicado na seção acima, o PAS tem como foco realçar, por meio de diferenças na coloração, a presença, a intensidade e a distribuição dos carboidratos (como glicogênio, mucinas e glicoproteínas) nos tecidos, favorecendo uma análise energética; ao contrário do H&E (Hematoxilina–Eosina), que é utilizado para avaliações morfométricas. Dessa forma, vários espaços de cores foram explorados a fim de se observar onde a segmentação das estruturas desejadas acontece da melhor forma - entre esses, citam-se: RGB, YUV, HED e HSV. Os resultados parciais eram comparados com a quantificação manual de três imagens feitas pelos profissionais do laboratório LPNE e, com isso, correções eram feitas no algoritmo segmentador. Notou-se uma maior diferença de contraste no canal verde do espaço RGB para o glicogênio e, com isso, após consecutivos ajustes, o seguinte algoritmo final foi desenvolvido (também observado na Figura 1.b):

1. Mínimos locais considerando os três canais RGB;
2. Operação morfológica de dilatação com o elemento estruturante cruz na matriz binária obtida no passo anterior;
3. Identificação das cores na imagem original correspondentes aos pixels de mínimos locais;
4. Ordenar o vetor de cores do passo anterior tendo como critério a soma dos valores de cada canal;
5. Selecionar uma percentagem dos mínimos locais ordenados e criar uma máscara binária onde essas cores ocorrerem na imagem original;
6. Operação morfológica de dilatação com o elemento estruturante cruz;
7. Operação morfológica de fechamento com o elemento estruturante disco de raio 2px;
8. Operação morfológica de abertura com o elemento estruturante cruz;
9. Contabilizar o número de pixels brancos presentes na máscara.

O método de segmentação apresentado foi testado por três diferentes vias. Para uma taxa de seleção de 22%, o primeiro conjunto de testes levou em consideração a métrica IoU (Intersection over Union) comparando as máscaras binárias geradas pelo software desenvolvido com as geradas pelo Image Pro Plus operado por um pesquisador do LPNE. O resultado foi positivo, alcançando uma média de 72% de interseção entre as máscaras. O segundo teste buscou avaliar a precisão da quantificação do glicogênio em μm^2 . Para tanto, o algoritmo segmentador foi executado em todas as 1950 imagens do *dataset* e o resultado foi comparado por meio do Teste-t pareado de duas caudas com as quantificações já feitas em outro momento pelo LPNE. O valor-p do lobo direito foi de 0.35 e o valor-p do lobo esquerdo foi de 0.98, indicando que não há uma diferença estatisticamente relevante entre a quantificação manual e a semiautomática, quando levado em consideração a média. A limiarização automática é calculada pelo método de Li aplicado sobre a imagem equalizada e corrigida por uma transformação de intensidade gama.

Por fim, o software desenvolvido foi apresentado, testado e validado por profissionais do LPNE, no qual houve um período de sugestões sobre o que poderia ser melhorado e ajustes pontuais na interface e algoritmo foram efetuados. Esse software (Figura 1.a) conta com uma tela de calibração da taxa de seleção (quando necessária) e uma tela de inspeção do resultado, em que o pesquisador tem a possibilidade de verificar a quantificação de cada imagem da pasta selecionada. O resultado é salvo em uma planilha eletrônica no formato.xlsx. Todo o algoritmo foi desenvolvido buscando os métodos mais eficientes possíveis e, com isso, as 1950 imagens foram quantificadas em apenas 28 minutos e 15 segundos (em um processador Apple M2), tarefa que levaria dias para ser concluída manualmente.

Figura 1 – Capturas de tela do software desenvolvido (a) e passo a passo de execução do algoritmo segmentador (b).



CONCLUSÕES

Considerando o algoritmo segmentador, o software desenvolvido e todos os testes estatísticos executados, conclui-se que os objetivos iniciais foram satisfeitos e um sistema preciso e confiável foi proposto para auxiliar os pesquisadores; fazendo com que o trabalho manual, desgastante e repetitivo, desempenhado anteriormente, possa ser automatizado.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos orientadores pelos ensinamentos e ao 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: 22 de agosto de 2025.

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

34º Encontro Anual de Iniciação Científica
14º Encontro Anual de Iniciação Científica Júnior



12 e 13 de novembro de 2025