



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO CEARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE TELECOMUNICAÇÕES
CAMPUS DE FORTALEZA

Alan Magalhães Braga

**UM ALGORITMO RÁPIDO DE LEVEL SET PARA SEGMENTAÇÃO
HIERÁRQUICA DE NÚCLEOS DE CÉLULAS CERVICAIS E SUA MASSA
CITOPLASMÁTICA**

Fortaleza - Ceará

2016

Alan Magalhães Braga

**UM ALGORITMO RÁPIDO DE LEVEL SET PARA
SEGMENTAÇÃO HIERÁRQUICA DE NÚCLEOS DE CÉLULAS
CERVICAIS E SUA MASSA CITOPLASMÁTICA**

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Telecomunicações do Instituto Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Engenharia de Telecomunicações.

Área de concentração: Sistemas de Telecomunicações.

Orientador: Prof. Dr. Regis Cristiano Pinheiro Marques.

Fortaleza
2016

Catálogo na fonte: Biblioteca Waldyr Diogo de Siqueira

B813u Braga, Alan Magalhães.

Um algoritmo rápido de level set para segmentação hierárquica de núcleos de células cervicais e sua massa citoplasmática / Alan Magalhães Braga. - Fortaleza: IFCE, 2016.

84p.

Dissertação (Engenharia de Telecomunicações).

Orientador: Prof. Dr. Regis Cristiano Pinheiro Marques.

1. CÉLULAS CERVICAIS. 2. DETECÇÃO DE GRUPOS. 3. LEVEL SET. 4. SEGMENTAÇÃO DE IMAGEM. I. Título.

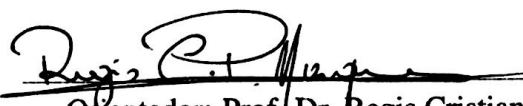
CDD 006.37

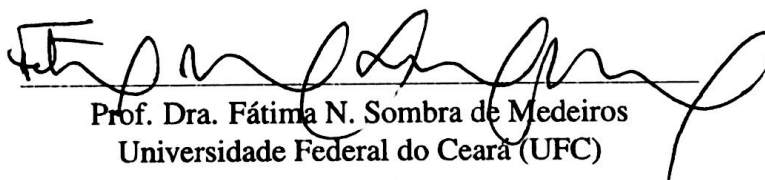


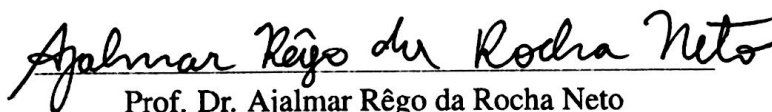
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO CEARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE TELECOMUNICAÇÕES

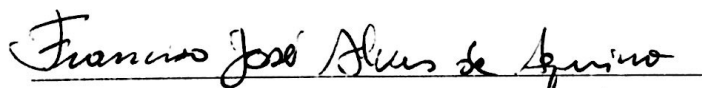
Alan Magalhães Braga

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Engenharia de Telecomunicações, sendo aprovada pela Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Telecomunicações do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará e pela banca examinadora:


Orientador: Prof. Dr. Regis Cristiano Pinheiro
Marques
Instituto Federal do Ceará (IFCE)


Prof. Dra. Fátima N. Sombra de Medeiros
Universidade Federal do Ceará (UFC)


Prof. Dr. Ajalmar Rêgo da Rocha Neto
Instituto Federal do Ceará (IFCE)


Prof. Dr. Francisco José Alves de Aquino
Instituto Federal do Ceará (IFCE)

Fortaleza, 18 de Julho de 2016

Dedico este trabalho à minha família.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus pela oportunidade de viver.

Aos meus pais Vanda e Josemar pelo carinho e por sempre estarem ao meu lado.

Ao Prof. Dr. Regis Cristiano Pinheiro Marques por sua orientação e por todo o aprendizado que recebi ao longo do mestrado.

À Prof. Dra. Fátima N. S. de Medeiros (UFC) por todas as contribuições durante este mestrado e a todos os membros da banca examinadora pelas considerações.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará e a todo o corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Telecomunicações pelo ensino de qualidade que recebi.

Aos meus irmãos Álvaro e Anne Aline por sempre me incentivarem nos momentos difíceis.

Aos meus colegas do mestrado, pela sua ajuda e estímulo para terminar este trabalho, em especial aos colegas Saulo Anderson, Danilo Avilar, Elizângela Rebouças, Shara Shami, Madson Dias, David Clifte, Roger Sarmento e Lucas Sousa.

“ [...] Até aqui nos ajudou o Senhor.”

1 Samuel 7:12

Resumo

Citologia automatizada requer algoritmos de segmentação multi-região, a fim de identificar e descrever estruturas e propriedades químicas de amostras de células. Dada esta demanda, este trabalho apresenta uma abordagem de segmentação hierárquica com base em um algoritmo rápido de *level set* binário para identificar a massa citoplasmática e segmentar os núcleos dentro desta estrutura. O método proposto segmenta recursivamente uma região em duas novas regiões, começando da imagem completa. Em cada passo do processo hierárquico, aplica-se uma análise multiescala do histograma para estimar o número de grupos em cada região atual. Assim, uma nova divisão é efetuada apenas se dois ou mais grupos são detectados e o processo de segmentação termina automaticamente quando não for mais possível realizar divisões. Para avaliar o desempenho da abordagem hierárquica proposta foram realizados experimentos em dois bancos de dados públicos contendo imagens com uma única célula cervical e imagens com várias células cervicais. Para a avaliação quantitativa dos resultados foram utilizadas as medidas *precisão*, *revocação* e ZSI (*Zijdenbos similarity index*). Estas medidas indicaram que o método proposto apresentou um bom desempenho em imagens com vários grupos e com baixo contraste. Adicionalmente, os resultados experimentais confirmaram a eficiência do algoritmo detector de grupos para inicializar a técnica de *level set*.

Palavras-Chave: *células cervicais, detecção de grupos, level set, segmentação de imagem.*

Abstract

Automated cytology requires multi-region segmentation algorithms in order to identify and describe structure and chemical properties of cells samples. Given this demand, this work presents a hierarchical segmentation approach based on a fast binary level set algorithm to identify cytoplasm clumps and segment the nucleus within these structures. The proposed method recursively segments a region into two new regions, starting from the whole image. Each step of the hierarchical process applies a multiscale histogram analysis to estimate the number of clusters in each current region. Thus, a new division is performed only if two or more clusters are detected and the segmentation process automatically terminates when all regions cannot be further divided. For performance evaluation of the proposed hierarchical approach experiments were carried out on two public image datasets with single or multiple cervical cells. For quantitative evaluation of the results were used measures such as precision, recall and the Zijdenbos similarity index. These measures indicated that the proposed method performed well on images with multiple *clusters* and low-contrast. Additionally, the experimental results confirmed the efficiency of the clusters detection algorithm to initialize the level set algorithm.

Keywords: *cervical cells, clusters detection, level set, image segmentation.*

Conteúdo

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Lista de Símbolos

Lista de Abreviações

1	Introdução	21
1.1	Motivação	23
1.2	Objetivos	23
1.2.1	Objetivo Geral	23
1.2.2	Objetivos Específicos	24
1.3	Contribuições e Produção Científica	24
1.4	Organização da Dissertação	25
2	Câncer Cervical e Métodos de Auxílio ao Diagnóstico por PDI	26
2.1	Câncer Cervical	26
2.1.1	Teste Preventivo de Papanicolaou	27
2.1.2	Classificação das lesões precursoras do câncer cervical	29
2.2	Métodos de Auxílio ao Diagnóstico por PDI	33
2.2.1	Métodos que segmentam apenas núcleos	33
2.2.2	Métodos que segmentam imagens com uma célula	34

2.2.3	Métodos que segmentam núcleos e a massa citoplasmática em imagens com várias células	35
2.2.4	Métodos que segmentam núcleos e as regiões de cada citoplasma em imagens com várias células	36
2.3	Conclusão do capítulo	37
3	Segmentação de imagens via métodos <i>Level Set</i>	38
3.1	O algoritmo <i>level set</i> original	39
3.2	Modelo de verossimilhança para evolução do <i>level set</i>	43
3.3	Algoritmo rápido de <i>level set</i> proposto	45
3.4	Conclusão do capítulo	49
4	Segmentação Hierárquica por Meio da Análise Multiescala de Histogramas	50
4.1	Detecção de grupos para inicialização do <i>level set</i>	50
4.2	Implementação hierárquica da técnica <i>level set</i>	54
4.3	Conclusão do capítulo	59
5	Experimentos e Resultados	60
5.1	Medidas de avaliação	60
5.1.1	Medidas baseadas em objeto	60
5.1.2	Medidas baseadas em pixel	61
5.2	Experimentos no banco de dados com imagens EDF	62
5.3	Experimentos no banco de dados Herlev	67
5.4	Conclusão do capítulo	75
6	Conclusão e Trabalhos Futuros	76
6.1	Conclusões	76
6.2	Trabalhos Futuros	78

Lista de Figuras

1	Localização das células cervicais coletadas no exame de Papanicolaou (NORUP, 2005).	28
2	Três principais componentes encontrados em imagens do exame de Papanicolaou.	28
3	Camadas do epitélio escamoso estratificado (NORUP, 2005).	29
4	Evolução das lesões pré-cancerosas no tecido epitelial cervical escamoso (STEVENS; LOWE, 1997).	31
5	Frente ou curva fechada $\vec{\phi}$ submetida a um campo de velocidades $(\pm F\vec{\eta})$	39
6	Processo de evolução da técnica <i>level set</i> . A partir de uma curva inicial $\vec{\phi}(s, 0)$ é computada uma superfície inicial $\psi(\mathbf{x}, 0)$, a qual evolui segundo um modelo de propagação a fim de delimitar uma região de interesse, que neste caso consiste em uma região com forma de um quadrado.	40
7	Exemplo de funções de verossimilhança das regiões Ω_1 e Ω_2 em uma dada iteração k do processo de evolução do <i>level set</i>	44
8	Exemplo da propagação da frente com base na velocidade resultante F	45
9	Exemplo de dois possíveis estados da superfície inicial ou <i>level set</i> zero: (a) com apenas um elemento; e (b) com vários elementos desconectados.	47
10	Segmentação utilizando a técnica <i>level set</i> : (a) histograma da imagem ruidosa; (b) imagem ruidosa e frente inicial; (c)-(g) estágios intermediários do processo de segmentação; e (h)-(i) resultados finais obtidos pelo <i>level set</i> proposto e pelo <i>level set</i> original, respectivamente.	48
11	Detecção de grupos: (a) histograma suavizado; (b) sinal de correlação; (c) grupos detectados indicados por (*); e (d) histograma original com indicação dos centróides dos grupos ($\odot$).	51

12	Detecção de grupos utilizando diferentes níveis de suavização: (a) histograma original e em (b) e (c) suas versões suavizados com $\sigma = 2$ e $\sigma = 3$, respectivamente.	52
13	Obtenção da superfície inicial do <i>level set</i> : (a) imagem em níveis de cinza; (b) histograma da imagem com os dois centróides detectados, indicados por ($\circ$), e com o valor de limiar; e (c) superfície inicial obtida por meio de uma limiarização.	53
14	Obtenção da região de vizinhança: (a) contorno do segmento; (b) contorno do mínimo retângulo que contém o segmento (<i>bounding box</i>); e (c) vizinhança que consiste da região dentro do <i>bounding box</i> que não contém a região do segmento.	56
15	Refinamento do resultado de um núcleo: (a) primeiro núcleo identificado; e (b) segundo núcleo identificado, com uma maior circularidade, obtido a partir da divisão do primeiro núcleo.	56
16	A abordagem hierárquica proposta: (a) procedimento principal baseado em uma segmentação recursiva das regiões obtidas a partir da primeira divisão; e (b) os dois testes usados como critério de divisão e identificação dos núcleos.	57
17	Exemplo de divisões recursivas das regiões obtidas a partir da primeira divisão da imagem da Figura 16, em que as regiões em branco não são consideradas nas divisões.	58
18	Regiões onde <i>VP</i> , <i>FP</i> e <i>FN</i> são computadas.	61
19	(a)-(b) Imagens, de uma mesma pilha, com várias células cervicais fora de foco; (c) imagem EDF em que todas as células cervicais estão em foco; e (d) a verdade terrestre dos núcleos da imagem EDF.	63
20	Passos do algoritmo de segmentação de células proposto por Lu, Carneiro e Bradley (2015), aqui refenciado por MSER-LS.	64
21	Avaliação baseada em objeto: (a) valores da medida <i>revocação</i> (REV_O); e (b) valores da medida <i>precisão</i> (PRE_O).	65
22	(a)-(d) Resultado final da segmentação de imagens EDF, da esquerda para a direita: a verdade terrestre; resultados do algoritmo proposto; e resultados do algoritmo MSER-LS, respectivamente.	66

23	(a) Imagens do banco de dados Herlev, da esquerda para a direita: 1-escamosa superficial, 2-escamosa intermediária, 3-colunar, 4-displasia leve, 5-displasia moderada, 6-displasia severa e 7-carcinoma <i>in situ</i> , respectivamente; e (b) as verdades terrestres das imagens.	68
24	Passos do algoritmo de segmentação de células introduzido em Chankong, Theera-Umpon e Auephanwiriyaikul (2014), aqui mencionado por M-FCM. . .	69
25	Passos do algoritmo de segmentação de células proposto por Li <i>et al.</i> (2012), aqui nomeado RGVF.	70
26	(a)-(d) Resultado da segmentação de imagens com mais de três grupos, da esquerda para a direita: a verdade terrestre; resultados do algoritmo proposto; resultados do RGVF; e resultados do M-FCM, respectivamente.	71
27	(a)-(f) Resultado final da segmentação de imagens do banco de dados Herlev, da esquerda para a direita: a verdade terrestre; resultados do algoritmo proposto; resultados do RGVF; e resultados do M-FCM, respectivamente.	74

Lista de Tabelas

1	Correlação entre os sistemas que classificam as lesões que precedem o câncer cervical.	31
2	Comparação da segmentação dos núcleos nas 16 imagens EDF.	67
3	Número de núcleos detectados corretamente no banco de dados Herlev.	72
4	Comparação da segmentação dos núcleos no banco de dados Herlev. As classes são numeradas como na Tabela 3.	73
5	Comparação da segmentação do citoplasma no banco de dados Herlev.	73

Lista de Símbolos

Θ	domínio da imagem
Ω	subconjunto de Θ
N	número de subconjuntos de Θ
$\mathcal{R}$	conjunto de regiões
$\mathbb{R}^n$	conjunto dos números reais n-dimensional
$\vec{\phi}(s,t)$	curva fechada ou frente de evolução do <i>level set</i>
$\psi^0(\mathbf{x})$	superfície inicial ou <i>level set</i> zero
$\psi^k(\mathbf{x})$	função de <i>level set</i>
k	iteração da evolução do <i>level set</i>
s	coordenadas da frente $\vec{\phi}$
$\mathbf{x}$	coordenadas da superfície ψ
t	tempo contínuo
$\vec{\eta}$	vetor normal à frente $\vec{\phi}(s,t)$
Ω_1	região interna à frente $\vec{\phi}(s,t)$
Ω_2	região externa à frente $\vec{\phi}(s,t)$
∇	operador gradiente espacial
f_c	função custo
ψ_t	função de evolução
Δt	passo de tempo
F	velocidade de propagação

F_1, F_2	componentes da velocidade de propagação
ε	constante de normalização
$\mathcal{K}$	curvatura de ψ^k
Δ^+, Δ^-	derivadas numéricas
z_0	pixel de uma imagem Z
$\mathcal{L}$	verossimilhança
$P(z_0 \Omega_i)$	função densidade de probabilidade da região i
$f_{\mathcal{N}}$	função densidade de probabilidade Normal
μ	média
σ	desvio padrão
σ^2	variância
L	janela Gaussiana 1-D
$\psi_{\tilde{r}}$	superfície não regularizada
E	elemento estruturante
$\oplus$	operação morfológica de dilatação
$\ominus$	operação morfológica de erosão
MedFilt_4	filtragem mediana
W_0	histograma suavizado
W_1	primeiro nível de coeficiente de detalhes <i>wavelet à trous</i>
corr_0	sinal correlacionado
n	segmento n de uma região
A_n	área do segmento
C_n	circularidade do segmento
μ_n	média dos pixels do segmento

μ_{viz}	média dos pixels da vizinhança
D_n	Diferença entre as médias dos pixels de um segmento e de sua vizinhança
P_n	perímetro do segmento
τ	limiar de sobreposição
N_{RS}	núcleo do resultado da segmentação
N_{REF}	núcleo da imagem de referência
PRE_O	<i>precisão</i> baseada em objeto
REV_O	<i>revocação</i> baseada em objeto
PRE_P	<i>precisão</i> baseada em pixel
REV_P	<i>revocação</i> baseada em pixel

Lista de Abreviações

AIS	Adenocarcinoma <i>in situ</i>
CIS	Carcinoma <i>in situ</i>
EDF	<i>Extended Depth of Field</i>
EDP	Equação Diferencial Parcial
FCM	<i>Fuzzy C-means</i>
FOV	<i>Fields of View</i> (Campos de Visão)
FN	Falso Negativo
FP	Falso Positivo
GC	<i>Graph Cut</i> (corte em grafos)
HPV	<i>Human Papilloma Virus</i> (Papilomavirus Humano)
HSIL	<i>High Squamous Intraepithelial Lesion</i> (Lesão Intraepitelial Escamosa de Alto Grau)
LAGC	<i>Local Adaptive Graph Cut</i>
LSIL	<i>Low Squamous Intraepithelial Lesion</i> (Lesão Intraepitelial Escamosa de Baixo Grau)
MSER	<i>Maximally Stable Extremal Regions</i>
NIC	Neoplasia Intraepitelial Cervical
PDI	Processamento Digital de Imagens
RGVF	<i>Radiating Gradient Vector Flow</i>
SIL	<i>Squamous Intraepithelial Lesion</i> (Lesão Intraepitelial Escamosa)

SVM	<i>Support Vector Machines</i> (Máquinas de Vetores Suporte)
VP	Verdadeiro Positivo
ZSI	<i>Zijdenbos Similarity Index</i>

INTRODUÇÃO

O câncer do colo do útero, também conhecido como câncer cervical, é uma das mais graves ameaças à vida das mulheres. Estima-se que mais de um milhão de mulheres em todo o mundo atualmente têm este tipo de câncer (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2014). Nas últimas três décadas, as taxas de incidência e mortalidade do câncer cervical têm diminuído nos países desenvolvidos, em grande parte como resultado do uso do teste de triagem Papanicolaou. Neste teste, uma amostra de células do colo uterino é examinada por um especialista em um microscópio, onde são verificadas mudanças nas células que são causadas pelo *Human Papilloma Virus* (HPV) que podem levar ao câncer (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2014).

Nos últimos anos, muitos esforços foram feitos por vários pesquisadores (GENÇTAV; AKSOY; ÖNDER, 2012), (BERGMEIR; SILVENTE; BENÍTEZ, 2012), (ZHANG *et al.*, 2014), (LU; CARNEIRO; BRADLEY, 2015), a fim de contribuir para a análise automatizada do teste de triagem, uma vez que a interpretação visual é demorada e requer um alto nível de experiência do observador (PLISSITI; NIKOU; CHARCHANTI, 2011b). Características do núcleo como tamanho, forma, cor e a relação entre núcleo e citoplasma são algumas das informações que os especialistas utilizam para o diagnóstico. Para sistemas de auxílio ao diagnóstico, métodos efetivos para segmentar os núcleos e citoplasmas são cruciais, dado que os processos seguintes, como extração de características e classificação, dependem do processo de segmentação.

Os trabalhos que tratam da segmentação de células cervicais podem ser divididos em 4 principais categorias: (i) métodos que segmentam apenas núcleos; (ii) métodos que segmentam núcleo e citoplasma em imagens com apenas uma célula; (iii) métodos que segmentam os núcleos e toda a massa citoplasmática; e (iv) métodos que segmentam os núcleos e as regiões individuais dos citoplasmas.

Os métodos mais tradicionais focam apenas na segmentação dos núcleos. Plissiti *et al.* (2006) e Plissiti, Nikou e Charchanti (2010a) utilizaram operações morfológicas para obter uma estimativa inicial dos contornos dos núcleos, os quais são utilizados pelo algoritmo

snake para alcançar os contornos finais. Plissiti, Nikou e Charchanti (2011b) propuseram um método baseado em reconstrução morfológica e na transformada *watershed* para detecção e segmentação de núcleos de células cervicais. Para solucionar problemas de núcleos sobrepostos, frequentemente encontrados em imagens do exame de Papanicolaou, Zhang *et al.* (2011) e Plissiti, Louka e Nikou (2014) utilizaram informações de concavidades para separá-los. Em Jung *et al.* (2010), uma abordagem com base em um classificador bayesiano foi apresentada para separar os núcleos.

Técnicas de segmentação baseadas em *snakes* foram propostas, apresentando resultados adequados em imagens com apenas uma célula. Porém, na utilização de *snakes* existe a necessidade de contornos iniciais próximos dos contornos reais. Em Li *et al.* (2012), os contornos iniciais são obtidos dividindo a imagem em três regiões utilizando o algoritmo k-médias. Chankong, Theera-Umpon e Auephanwiriyakul (2014) propuseram um método para segmentar o núcleo e o citoplasma de células cervicais com o uso da técnica *fuzzy C-means* (FCM). Inicialmente, o método divide a imagem em sete grupos e em seguida os classifica como núcleo, citoplasma ou fundo da imagem.

Kale e Aksoy (2010) e Gençtav, Aksoy e Önder (2012) apresentaram abordagens hierárquicas com base no algoritmo *watershed* para segmentar os núcleos e toda a massa citoplasmática em imagens com várias células cervicais. Zhang *et al.* (2014) introduziram uma abordagem baseada em algoritmos de limiarização e de cortes em grafos (*Graph Cut*, GC) para segmentar imagens com várias células cervicais. Nesta abordagem, a imagem é segmentada em quatro regiões utilizando o método GC, em que a região mais clara obtida é considerada como fundo da imagem e as outras três regiões formam a massa citoplasmática. Para obter os núcleos, os autores realizam uma binarização na imagem usando um algoritmo de limiarização adaptativa e depois refinam cada núcleo detectado usando o algoritmo GC de forma local.

Uma completa segmentação de células sobrepostas foi apresentada em Ushizima, Bianchi e Carneiro (2014), Ramalho *et al.* (2015), Lu, Carneiro e Bradley (2013), em que as regiões individuais dos núcleos e citoplasmas foram obtidas em imagens com várias células cervicais sobrepostas. Lu, Carneiro e Bradley (2015) propuseram um algoritmo para a segmentação de núcleo e citoplasma baseado em uma otimização de múltiplas funções *level set*, em que cada função representa uma célula. Nesta abordagem, a massa celular obtida por uma classificação binária e os núcleos detectados pelo algoritmo *Maximally Stable Extremal Regions* (MSER) são utilizados para obter uma segmentação inicial de cada citoplasma requerida pelo algoritmo *level set*.

1.1 Motivação

Algoritmos de agrupamento convencionais dividem amostras de dados em um número de grupos predefinido. Em imagens do teste de Papanicolau, devido a fatores que incluem sobreposição de células, baixo contraste e células inflamadas, nem todas as imagens apresentam as três principais regiões (núcleo, citoplasma e fundo) claramente definidas. Por exemplo, algumas regiões do citoplasma, cujos pixels têm menor intensidade, podem ser agrupadas como regiões de núcleos. Para obter resultados satisfatórios, algumas imagens precisam ser segmentadas em mais de três grupos, ou seja, o conhecimento do número de grupos da imagem é necessário, e configura um problema desafiador.

O método *level set* baseia-se na evolução de frentes por meio de uma superfície, chamada função *level set*. Para a segmentação de imagens com vários grupos, normalmente múltiplas funções *level set* são empregadas. Porém, desenvolver um modelo de propagação efetivo para segmentar múltiplas regiões pode ser uma tarefa complexa se o número de regiões não é conhecido. Além do mais, resultados indesejáveis podem ocorrer, como intercessão entre as regiões. A fim de solucionar esses problemas, Jeon *et al.* (2005) e Badshah e Chen (2009) apresentaram abordagens hierárquicas para segmentar imagens com várias regiões com base no método *level set* binário. Ni *et al.* (2009) também propuseram um algoritmo hierárquico que recursivamente divide uma região em duas novas regiões, a partir da imagem completa.

A proposta original do *level set* binário é baseada na formulação de Hamilton-Jacobi (SETHIAN, 1999) e tem um alto custo computacional. Em Li *et al.* (2005), Shi e Karl (2005), Bresson *et al.* (2007), Lellmann e Schnorr (2011), Chambolle, Cremers e Pock (2012) foram propostas implementações rápidas do *level set* que produzem resultados satisfatórios de segmentação binária. Porém, estes algoritmos rápidos requerem parâmetros empíricos para tratar a regularização da curva por meio de filtragem passa-baixa.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo Geral

Este trabalho tem como objetivo propor, implementar e avaliar um algoritmo rápido de *level set* para segmentação hierárquica de núcleos de células cervicais e sua massa citoplasmática.

1.2.2 Objetivos Específicos

Dentre os objetivos específicos a serem atingidos nesta dissertação estão:

- introduzir o câncer cervical e a metodologia utilizada para o diagnóstico de lesões que precedem este tipo de câncer;
- propor um algoritmo rápido de *level set* binário;
- propor um algoritmo multiescala para estimar informações de grupos de uma imagem, e automatizar a inicialização do método *level set*;
- propor uma abordagem hierárquica baseada no algoritmo rápido de *level set* binário para segmentação de imagens com vários grupos;
- avaliar a abordagem hierárquica proposta utilizando dois bancos de dados de imagens de células cervicais.

1.3 Contribuições e Produção Científica

As contribuições desta dissertação são as seguintes:

- um algoritmo rápido de *level set* baseado na mediana;
- uma abordagem hierárquica para segmentação de imagens com vários grupos, em que a cada passo do processo uma análise multiescala do histograma é utilizada para estimar o número de grupos de uma região;
- segmentação conjunta da massa citoplasmática e dos núcleos em imagens contendo uma ou várias células cervicais.

Os seguintes artigos são frutos dessa pesquisa:

- BRAGA, Alan M.; MEDEIROS, F. N. S.; MARQUES, R. C. P. **Multiscale Approach for Cluster Estimation and Image Segmentation**. In: 27th Conference on Graphics, Patterns and Images (SIBGRAPI-WiP). Rio de Janeiro, 2014. p. 13-16.
- BRAGA, Alan M.; MARQUES, R. C. P.; MEDEIROS, F. N. S.; USHIZIMA, D. M. **Segmentação de Células Cervicais Utilizando Level Set Binário-Hierárquico**. In: 28th Conference on Graphics, Patterns and Images (SIBGRAPI-WiP). Salvador, 2015. p. 1-4.

- BRAGA, Alan M.; RODRIGUES, Francisco A. A.; MARQUES, R. C. P.; MEDEIROS, F. N. S. **A fast hierarchical level set algorithm for SAR image segmentation based on median filtering and stochastic distance**. A ser submetido em 2016.
- BRAGA, Alan M.; MARQUES, R. C. P.; MEDEIROS, F. N. S.; USHIZIMA, D. M.; ROCHA NETO, Jeová F. S. **Hierarchical Level Set Algorithm for Nuclei Detection in Cervical Cell Images**. A ser submetido em 2016.

1.4 Organização da Dissertação

O restante desta dissertação está organizada da seguinte forma:

Capítulo 2: contextualização do problema do câncer cervical, metodologia de diagnóstico e da evolução e classificação das lesões que precedem este câncer; e apresentação de métodos de segmentação encontrados na literatura que visam auxiliar o diagnóstico deste tipo de câncer.

Capítulo 3: introdução da proposta original do algoritmo *level set*; e uma proposta de um algoritmo rápido de *level set* baseado no filtro da mediana.

Capítulo 4: apresentação de uma proposta para inicialização da superfície de *level set*, baseada na análise multiescala do histograma da imagem; e de uma adaptação do método *level set* binário para segmentação de múltiplas regiões, por meio de uma abordagem hierárquica.

Capítulo 5: apresentação dos resultados de segmentação obtidos em dois bancos de dados públicos contendo imagens com apenas uma célula cervical e com várias células cervicais; e avaliação dos resultados por meio de medidas que descrevem a detecção e a acurácia das regiões segmentadas.

Capítulo 6: conclusões do trabalho destacando suas contribuições, bem como perspectivas de trabalhos.

CÂNCER CERVICAL E MÉTODOS DE AUXÍLIO AO DIAGNÓSTICO POR PDI

Este capítulo contextualiza o problema do câncer cervical, metodologia de diagnóstico e a evolução e classificação das células, segundo o estágio de evolução do câncer. É explorado ainda como técnicas de Processamento Digital de Imagens (PDI) têm sido utilizadas para auxiliar o diagnóstico deste tipo de câncer.

2.1 Câncer Cervical

O câncer cervical, também conhecido como câncer do colo do útero, é um grande problema de saúde pública no Brasil e no mundo. As mais altas taxas de incidência e mortalidade do câncer cervical são observadas em países pouco desenvolvidos, indicando uma forte associação deste tipo de câncer com as condições de vida precária, com os baixos índices de desenvolvimento humano, com a ausência ou fragilidade das estratégias de educação comunitária (promoção e prevenção em saúde) e com a dificuldade de acesso a serviços públicos de saúde para o diagnóstico precoce e o tratamento das lesões precursoras (INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER, 2006).

Em 2012, em todo o mundo, foram diagnosticados 528 000 novos casos de câncer cervical, e 266 000 mulheres morreram desta doença, onde cerca de 90% das mortes ocorreram em países pouco desenvolvidos. Sem uma atenção maior, o número de mortes tende a aumentar em quase 25% nos próximos 10 anos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2014). É o terceiro tumor mais frequente na população feminina, atrás do câncer de mama e do colorretal, e a quarta causa de morte de mulheres por câncer no Brasil (INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER, 2015).

Atualmente se conhece muito sobre a patogênese deste câncer e de suas lesões precursoras. É conhecido, por exemplo, que a infecção persistente pelo vírus HPV é fundamental neste processo (ZELMANOWICZ, 2004). Fatores como o início precoce da atividade sexual, a diversidade de parceiros, o fumo e a má higiene íntima podem facilitar a infecção (FRANCO,

2015).

Já foram identificados mais de 120 tipos diferentes de HPV com base na heterogeneidade de seus genomas, dos quais muitos deles não estão associados ao câncer cervical. De acordo com seu potencial oncogênico, estes vírus são classificados de baixo ou de alto risco (PESSOA, 2014). Dos tipos de HPV considerados como de alto risco, os mais comumente encontrados são: 16, 18, 31, 35, 39, 45, 51, 52, 58, 59, 68 e 82. Os de baixo risco mais frequentes são: 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 72, 73 e 81. Os vírus HPV tipos 16 e 18 são responsáveis por cerca de 70% dos casos de câncer cervical (SOUZA, 2015).

A maioria das mulheres infectadas pelo HPV não desenvolvem câncer visto que a maioria das infecções, independentemente do tipo de HPV, são de curta duração e o corpo as elimina espontaneamente em menos de dois anos. A infecção por algum tipo de HPV de alto risco apenas persiste (torna-se crônica) em uma pequena porcentagem de mulheres, e apenas uma pequena porcentagem destas infecções persistentes evolui para lesões precursoras ao câncer. Destas, menos ainda evoluem para o câncer invasivo. Assim, estima-se que não mais de 2% de todas as mulheres do mundo desenvolverá câncer cervical durante suas vidas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2014).

A evolução do câncer cervical, se dá de forma lenta, passando por fases pré-clínicas detectáveis e curáveis. Dentre todos os tipos de câncer, é o que apresenta um dos mais altos potenciais de prevenção e cura. Seu pico de incidência situa-se entre mulheres de 40 a 60 anos de idade e, apenas uma pequena porcentagem, naquelas com menos de 30 anos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002).

2.1.1 Teste Preventivo de Papanicolaou

A realização do teste preventivo de Papanicolaou tem sido reconhecida mundialmente como uma estratégia segura e eficiente para o diagnóstico precoce de lesões precursoras do câncer cervical na população feminina e tem reduzido efetivamente as taxas de incidência e mortalidade por este câncer (INSTITUTO NACIONAL DE CâNCER, 2006).

O exame é indolor, simples e rápido. Pode, no máximo, causar um pequeno desconforto que diminui se a mulher conseguir relaxar e se o teste for realizado com boa técnica e de forma delicada. Inicialmente é introduzido um instrumento chamado espéculo para manter o canal vaginal aberto, e assim ser possível visualizar o colo do útero. Depois disto, o profissional realiza a coleta de células das porções externa e interna do colo do útero utilizando uma espátula de madeira (espátula de Ayre) e uma escova cervical, respectivamente (INSTITUTO

NACIONAL DE CÂNCER, 2015). A Figura 1 mostra a localização das células das partes externa e interna do colo do útero.

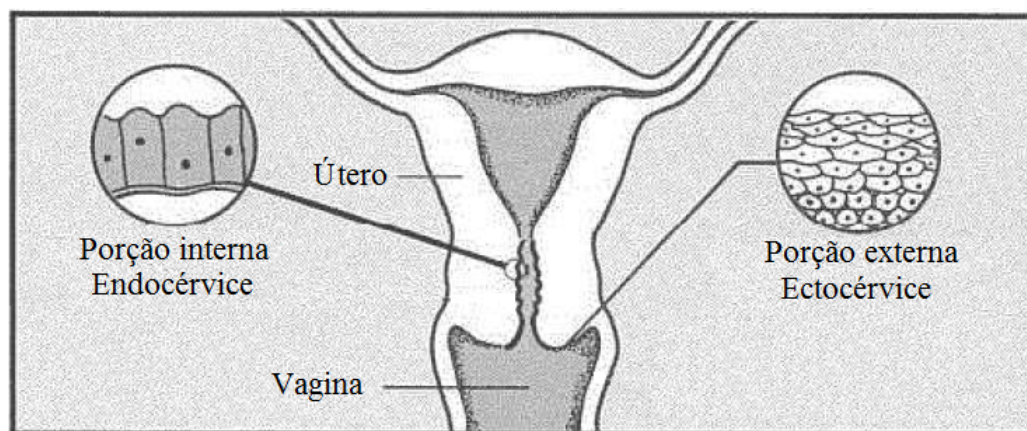


Figura 1: Localização das células cervicais coletadas no exame de Papanicolaou (NORUP, 2005).

Em seguida, as amostras coletadas são depositadas em uma lâmina de vidro, fixadas com material específico e coradas usando a técnica de Papanicolaou, em que diferentes componentes da imagem podem ser enfatizados por cores diferentes, como a Figura 2 mostra. Por fim, as lâminas são analisadas por microscopia em laboratório especializado em citopatologia (NORUP, 2005).



Figura 2: Três principais componentes encontrados em imagens do exame de Papanicolaou.

A porção externa do colo uterino, chamada ectocérvice, está em contato com a vagina e, portanto, é a porção mais visível no exame. A ectocérvice é recoberta por um epitélio escamoso estratificado, em que as células estão distribuídas em 4 camadas: basal, parabasal, intermediária e superficial, como a Figura 3 apresenta.

As células mais jovens encontram-se próximas à membrana basal formando a camada basal. Células nessa camada são pequenas e arredondadas, com núcleos relativamente grandes e escuros (NORUP, 2005). São menos diferenciadas e se dividem continuamente. As células basais se dividem e maturam para formar a próxima camada contendo células parabasais, que também têm núcleos relativamente grandes de coloração escura. Uma maior diferenciação

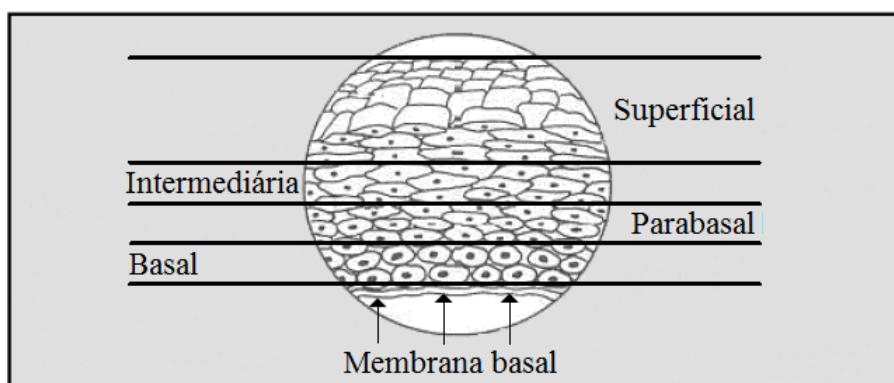


Figura 3: Camadas do epitélio escamoso estratificado (NORUP, 2005).

e maturação destas células conduz às camadas intermediárias de células poligonais com citoplasma abundante e pequenos núcleos arredondados. Com mais maturação, são formadas células grandes e acentuadamente planas com citoplasma mais transparente e com núcleos pequenos e densos das camadas superficiais. Em termos gerais, da camada basal à superficial, essas células sofrem um aumento no tamanho do citoplasma e redução do tamanho nuclear (SELLORS; SANKARANARAYANAN, 2003).

A porção interna do colo uterino, chamada endocérvice ou canal endocervical, é revestida pelo epitélio colunar (também denominado de epitélio glandular) (SELLORS; SANKARANARAYANAN, 2003). Este epitélio é composto por uma única camada de células próxima à membrana basal. É mais fino e mais frágil do que o epitélio escamoso da ectocérvice e contém várias glândulas que lubrificam o canal. As células colunares são altas e cilíndricas com núcleos localizados em uma das extremidades do citoplasma (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2014).

2.1.2 Classificação das lesões precursoras do câncer cervical

O principal agente para o câncer cervical é a infecção persistente pelo vírus HPV. Acredita-se que a infecção comece nas células basais do epitélio, em que a divisão celular é intensa e o vírus encontra ambiente adequado para iniciar o ciclo infeccioso (SELLORS; SANKARANARAYANAN, 2003). Para que os vírus infectem as células da camada basal é necessário que ocorra perda da integridade do epitélio, como é o caso, por exemplo, de microerosões ou microtraumatismos que ocorrem na pele ou mucosas durante a relação sexual (CARVALHO, 2009).

Após a infecção, o vírus utiliza os mecanismos da célula hospedeira para replicar o seu material genético, ou seja, cada célula infectada distribui o DNA viral para as células filhas

resultantes do processo de divisão. Como o vírus HPV depende do processo de divisão celular para distribuir o seu material genético, ele expressa proteínas virais capazes de inibir a diferenciação celular e estimular a proliferação das células, o que favorece o desenvolvimento das lesões precursoras do câncer cervical (FRAZER *et al.*, 2006).

Dos cânceres cervicais, apenas 10% são originados em células do epitélio colunar e 90% surgem em células do epitélio escamoso estratificado (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2014). A lesão precursora que se reconhece como tendo sido originada do epitélio colunar é denominada por adenocarcinoma *in situ* (AIS) (SELLORS; SANKARANARAYANAN, 2003). Os núcleos das células colunares apresentam-se alongados e aumentados com variação de tamanhos, mais escuros e com cromatinas grosseiramente granulares. Outra característica observada no adenocarcinoma *in situ* é o aumento da relação núcleo-citoplasma (LIMA, 2012).

A história natural das lesões precursoras do carcinoma, câncer originado em células do epitélio escamoso estratificado, é bem conhecida. Nos últimos 60 anos, a compreensão da etiologia e patogenia destas lesões aumentou, principalmente com o progresso dos eventos moleculares associados a essa patologia. Em resposta aos novos conhecimentos, a terminologia também mudou, originando a cada descoberta um novo sistema de classificação, que refletia o pensamento científico da época (CARVALHO; QUEIROZ, 2010).

Reagan, Seidemann e Saracusa (1953) utilizaram os termos displasia e carcinoma *in situ* (CIS) para classificar as lesões que precedem o câncer cervical escamoso. Este sistema de classificação levava em conta o grau de comprometimento da espessura epitelial por células anormais indiferenciadas. Adicionalmente, as displasias foram subdivididas em leve, moderada e severa.

Com o passar dos anos, observou-se que alguns casos de displasia regrediam, alguns persistiam e outros progrediam a CIS. Uma correlação direta com progressão e grau histológico foi verificada. Essas observações levaram ao conceito de um único processo patológico contínuo pelo qual o epitélio normal evolui para lesões precursoras epiteliais que podem progredir para uma neoplasia invasiva. Com isso, o termo neoplasia intraepitelial cervical (NIC) foi introduzido, em 1968, para indicar uma ampla gama de atipia celular limitada ao epitélio, sendo dividida em graus I, II e III. A NIC I correspondia à displasia leve, a NIC II à displasia moderada e a NIC III à displasia severa e CIS (SELLORS; SANKARANARAYANAN, 2003).

A classificação citológica mais atual do esfregaço cervical é o sistema Bethesda, criado em 1990. A principal característica deste sistema foi a introdução do termo lesão intraepitelial escamosa (*Squamous Intraepithelial Lesion*, SIL) e um esquema de dois graus que compreende lesões de baixo grau (*Low Squamous Intraepithelial Lesion*, LSIL) e alto grau (*High Squamous*

Intraepithelial Lesion, HSIL), ressaltando o conceito de possibilidade de evolução para o câncer (INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER, 2006). A LSIL compreende a NIC I, enquanto a HSIL compreende os graus mais graves da NIC (II e III). As lesões de alto grau são consideradas como as verdadeiras precursoras do câncer e, se não tratadas, em boa proporção dos casos, evoluirão para o carcinoma invasor do colo do útero. O termo “lesão” substituiu o termo “neoplasia”, visto que a associação de quaisquer graus morfológicos da alteração celular não necessariamente identifica um processo neoplásico (CARVALHO; QUEIROZ, 2010). Esse sistema de classificação foi revisto em 1991 e 2001, porém sem mudanças estruturais (INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER, 2006). As correlações entre os três sistemas de classificação mencionados são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1: Correlação entre os sistemas que classificam as lesões que precedem o câncer cervical.

Classificação em displasia/CIS	Classificação em NIC	Classificação do Sistema Bethesda
Displasia leve	NIC I	LSIL
Displasia moderada	NIC II	HSIL
Displasia severa Carcinoma <i>in situ</i>	NIC III	

Embora o sistema Bethesda seja a nomenclatura mais atual, os termos displasia/carcinoma *in situ* e neoplasia intraepitelial cervical (NIC) ainda são amplamente usados em muitos países (SELLORS; SANKARANARAYANAN, 2003). A Figura 4 ilustra uma representação esquemática das alterações que ocorrem a nível celular e estrutural no epitélio cervical escamoso estratificado. À medida que o grau de anormalidade avança, as células perdem progressivamente a sua capacidade de diferenciação até que toda a espessura do epitélio seja composta por células basais anormais e indiferenciadas.

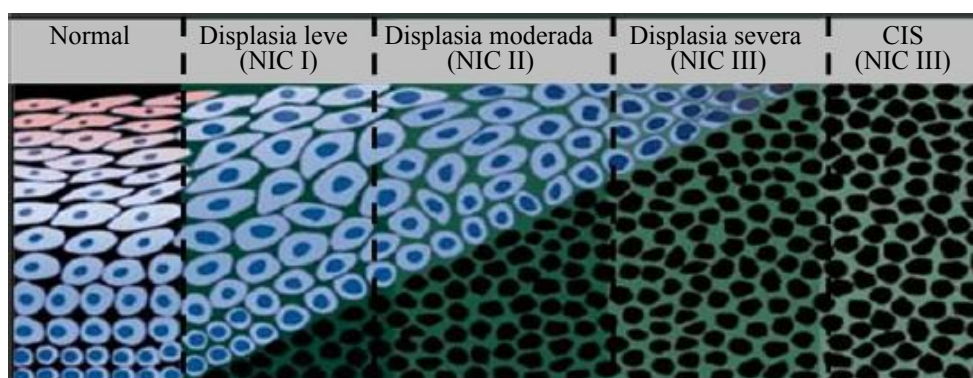


Figura 4: Evolução das lesões pré-cancerosas no tecido epitelial cervical escamoso (STEVENS; LOWE, 1997).

Na avaliação citológica, exame de Papanicolaou, as lesões pré-cancerosas são classificadas com base na maturidade de células anormais coletadas no exame (ELEUTÉRIO JR., 2003).

As amostras coletadas pela espátula de Ayre são compostas basicamente por células que se encontram nas regiões mais superficiais do epitélio. Células das camadas mais profundas dificilmente são vistas em esfregaços citológicos. Em geral, células anormais apresentam alterações nucleares que incluem: aumento do tamanho, alterações da forma e modificações da estrutura cromatínica e hiperchromasia (coloração mais escura) (LIMA, 2012). O tamanho do núcleo em relação ao citoplasma (relação núcleo-citoplasma) é uma das características mais importantes na avaliação do grau da lesão. Proporções maiores desta relação núcleo-citoplasma estão associadas com a diminuição da maturidade celular e, portanto, estão associadas a graus mais graves de NIC (SELLORS; SANKARANARAYANAN, 2003).

Na NIC I (displasia leve) o terço mais profundo do epitélio é composto por células basais anormais. Apesar da infecção pelo vírus HPV, há boa diferenciação e maturação das células com anomalias nucleares mínimas envolvendo todo o epitélio (SELLORS; SANKARANARAYANAN, 2003). Assim, no exame citológico as alterações citomorfológicas são vistas em células maduras das camadas superficial e intermediária.

Em NIC II (displasia moderada) as células anormais indiferenciadas ocupam os dois terços inferiores do epitélio. A parte superior restante é constituída por células anormais do porte das intermediárias e parabasais, as quais são coletadas pela espátula de Ayre no teste citológico (CAVALCANTE, 2013).

Embora a NIC III englobe a displasia severa e carcinoma *in situ* em um mesmo grupo, algumas diferenças são evidenciadas nos dois tipos, de forma que alguns autores ainda fazem tal distinção. Em displasia severa, mais de dois terços da espessura do epitélio escamoso apresenta células basais anormais indiferenciadas, mas ainda com um certo grau de diferenciação de células na parte superior do epitélio composta basicamente por células parabasais e basais anormais (CAVALCANTE, 2013). Já o carcinoma *in situ* classifica casos em que toda a espessura do epitélio está constituída por células basais anormais e indiferenciadas, porém com a membrana basal íntegra (ELEUTÉRIO JR., 2003). A lesão é denominada câncer (carcinoma invasivo) quando há o rompimento da membrana basal, em que as células invadem e infectam os tecidos vizinhos.

Como visto, o diagnóstico das lesões que precedem o câncer cervical é realizado por meio do teste de triagem Papanicolaou. Nesse teste, amostras de células do colo uterino são examinadas por um especialista em um microscópio, a fim de verificar mudanças nas células causadas pelo HPV que podem evoluir para um estágio de câncer. Em geral, um esfregaço cervical contém células com uma variedade de alterações, portanto, a notificação dos achados implica em desafios consideráveis e subjetividade. Assim, a experiência do citopatologista é

extremamente importante na notificação final (SELLORS; SANKARANARAYANAN, 2003). Adicionalmente, a avaliação é demorada e a fadiga causada pela observação de várias lâminas ocasiona erros que podem prejudicar os pacientes. Assim, o uso de técnicas computacionais pode auxiliar na melhoria da qualidade dos exames, na precisão dos resultados e na diminuição do tempo de espera dos resultados. Um sistema computacional pode examinar uma quantidade enorme de lâminas, durante todo o dia, funcionando como uma pré-triagem ao citopatologista. Vale ressaltar que o especialista é essencial para o sucesso desse trabalho, dado que ele será o responsável pelo diagnóstico final.

2.2 Métodos de Auxílio ao Diagnóstico por PDI

Como dito anteriormente, os trabalhos que tratam da segmentação de células cervicais podem ser divididos em 4 principais categorias: (i) métodos que segmentam apenas núcleos; (ii) métodos que segmentam núcleo e citoplasma em imagens com apenas uma célula; (iii) métodos que segmentam os núcleos e toda a massa citoplasmática; e (iv) métodos que segmentam os núcleos e as regiões individuais dos citoplasmas. A seguir são apresentados alguns trabalhos dessas 4 categorias.

2.2.1 Métodos que segmentam apenas núcleos

Os métodos mais tradicionais focam apenas na segmentação dos núcleos. Nos trabalhos de Plissiti *et al.* (2006) e Plissiti, Nikou e Charchanti (2010a), operações morfológicas são utilizadas para obter uma estimativa inicial dos contornos dos núcleos, os quais são utilizados pelo algoritmo *snake* para alcançar os contornos finais. Em Bergmeir, Silvente e Benítez (2012), o algoritmo *mean-shift* e um filtro da mediana são utilizados para eliminar ruídos enquanto preservam e suavizam as bordas da imagem. O operador de Canny detecta as bordas da imagem filtrada e segmentos adjacentes ao fundo da imagem são removidos. Em seguida, segmentos de bordas com forma elipsoidal, localizados pela transformada de *Hough*, são processados pelo algoritmo *level set* para obter os contornos reais dos núcleos.

Plissiti, Nikou e Charchanti (2011b) propuseram um método automático para detecção e segmentação de núcleos de células cervicais. Inicialmente, um esquema baseado em reconstrução morfológica é utilizado para obter as regiões de mínimos locais da imagem, que normalmente correspondem às regiões dos núcleos. A fim de obter os contornos dos segmentos candidatos a núcleos, a transformada *watershed* é aplicada no gradiente morfológico da imagem, utilizando como marcadores os centróides das regiões de mínimos locais obtidas.

Em seguida, características de forma, textura e intensidade são extraídas dos segmentos candidatos a núcleos e uma classificação binária é realizada para identificar os verdadeiros núcleos. Os autores avaliaram o desempenho da abordagem proposta usando os classificadores K-médias, *spectral clustering* e Máquinas de Vetores Suporte (*Support Vector Machines*, SVM). Abordagens similares foram apresentadas nos artigos de Plissiti, Nikou e Charchanti (2010b) e Plissiti, Nikou e Charchanti (2011a), em que os falsos núcleos são removidos com diferentes classificadores.

Em imagens do exame de Papanicolaou, frequentemente os núcleos se encontram sobrepostos. Zhang *et al.* (2011) e Plissiti, Louka e Nikou (2014) utilizaram informações de concavidades para separar os núcleos sobrepostos. Plissiti e Nikou (2012) propuseram um método para dividir dois núcleos sobrepostos com o uso de modelos de forma ativa. Em Jung *et al.* (2010), uma abordagem com base em um classificador bayesiano foi apresentada para separar os núcleos.

2.2.2 Métodos que segmentam imagens com uma célula

A segunda categoria de trabalhos apresentada na literatura é a segmentação do núcleo e citoplasma em imagens com apenas uma célula cervical. Em Li *et al.* (2012), inicialmente a imagem original é convertida para o sistema de cores CIELab, em que a dimensão de luminância (L) é normalizada linearmente de 0 a 255 para melhorar o contraste da imagem. Em seguida, o filtro *non-local means* é utilizado para remover ruídos enquanto preserva as bordas dos objetos da imagem. A fim de obter as regiões do núcleo e do citoplasma, os autores introduziram um método baseado em *snake*, denominado *Radiating Gradient Vector Flow* (RGVF), que requer para sua inicialização o contorno inicial do objeto de interesse e o mapa de bordas da imagem. Os contornos iniciais para o núcleo e citoplasma são obtidos dividindo a imagem em 3 regiões utilizando o método k-médias. Já o mapa de bordas é computado com base em linhas radiantes, que têm como origem o ponto central da região do núcleo.

Chankong, Theera-Umporn e Auephanwiriyakul (2014) propuseram um método para segmentar o núcleo e o citoplasma de células cervicais com o uso da técnica *fuzzy C-means* (FCM). O método primeiro converte a imagem para escala de cinza e em seguida um filtro da mediana é aplicado para eliminar ruídos e suavizar a imagem. A imagem processada é então segmentada em 7 grupos, usando a técnica FCM. Posteriormente, cada um desses grupos é identificado como núcleo, citoplasma ou fundo da imagem com base em 2 limiares, em que seus valores correspondem a 80% e 120% da média dos centróides dos 7 grupos. Assim, a região do núcleo é composta pelos grupos que têm centróides com valores menores (mais escuros)

que o limiar de menor valor. Similarmente, grupos com centróides entre os dois limiares são classificados como citoplasma e os grupos restantes são considerados como fundo da imagem.

2.2.3 Métodos que segmentam núcleos e a massa citoplasmática em imagens com várias células

Kale e Aksoy (2010) introduziram uma abordagem com duas etapas para segmentar os núcleos e toda a massa celular (ou massa citoplasmática) em imagens com várias células cervicais. A primeira etapa consiste em dividir uma imagem utilizando um algoritmo de segmentação hierárquico. Após construir uma árvore hierárquica aplicando o algoritmo *watershed* (BEUCHER; LANTUEJOUL, 1979) no gradiente da imagem em diferentes escalas, os segmentos mais significativos dessa árvore são automaticamente selecionados com base em características de homogeneidade e circularidade. O objetivo dessa seleção é obter, de todos os níveis da árvore hierárquica, as regiões que têm uma maior probabilidade de representar os núcleos. Na segunda etapa do processo, os segmentos selecionados na primeira etapa são classificados como núcleo ou citoplasma com o classificador SVM usando características de tamanho, média da intensidade dos pixels, circularidade e homogeneidade. A região final da massa citoplasmática é obtida com a união de todos os segmentos que não são classificados como núcleo.

Gençtav, Aksoy e Önder (2012) melhoraram o desempenho do método mencionado acima usando um esquema diferente para obter a massa citoplasmática e utilizando diferentes classificadores na segunda etapa do processo. Inicialmente, a imagem é convertida do sistema de cores RGB para o sistema CIELab. Os autores utilizam operações morfológicas para corrigir a iluminação não uniforme presente no canal de luminância (L) e em seguida usam um algoritmo de limiarização para obter a massa celular. O algoritmo *watershed* também é executado no gradiente da imagem em diferentes escalas e os segmentos mais significativos da árvore hierárquica também são selecionados com base em características de homogeneidade e circularidade. Porém, a árvore é construída apenas por segmentos que estão no interior da massa celular. Os autores avaliaram o desempenho do método com diferentes classificadores na segunda etapa. Os classificadores SVM (VAPNIK; KOTZ, 1982), Bayesiano (BISHOP, 2006) e árvore de decisão (BREIMAN *et al.*, 1984) foram avaliados. Eles também combinaram estes três classificadores usando a soma e o produto de suas probabilidades *a posteriori* e concluíram que a combinação com a soma obteve o melhor desempenho.

Zhang *et al.* (2014) apresentaram um método baseado em algoritmos de limiarização e de cortes em grafos (*Graph Cut*, GC) para segmentar imagens com várias células cervicais.

Inicialmente, a imagem é convertida do sistema de cores RGB para o sistema CIELab, em que o canal de cromaticidade (a) é extraído e os valores de seus pixels são normalizados de 0 a 255. Um filtro da mediana, com uma janela 5x5, elimina ruídos impulsivos e Gaussianos presentes na imagem. Em seguida, a imagem é segmentada em 4 regiões usando o método GC. A região mais clara, ou seja, a região com a média de pixels maior é considerada como o fundo da imagem enquanto que as outras 3 regiões formam a região da massa citoplasmática. Para segmentar os núcleos, os autores propuseram o método *Local Adaptive Graph Cut* (LAGC). Este método primeiro realiza uma binarização na imagem usando um algoritmo de limiarização adaptativa e depois refina cada núcleo detectado usando o algoritmo GC de forma local.

2.2.4 Métodos que segmentam núcleos e as regiões de cada citoplasma em imagens com várias células

Na prática, várias células cervicais são analisadas no exame de Papanicolaou. Algumas delas encontram-se isoladas e outras encontram-se sobrepostas formando aglomerados de células, o que dificulta a obtenção das regiões individuais do núcleo e do citoplasma. Na análise realizada por microscopia, muitas vezes esse problema é solucionado ajustando o foco das lentes, e as células em diferentes camadas podem ser claramente identificadas (PLISSITI; NIKOU, 2012). Porém, isto não é possível em análises computacionais realizadas em imagens, sendo necessário desenvolver técnicas capazes de segmentar as regiões individuais de cada célula. Uma completa segmentação de células sobrepostas foi realizada em Lu, Carneiro e Bradley (2013), Ushizima, Bianchi e Carneiro (2014), Ramalho *et al.* (2015), sendo que os dois últimos trabalhos foram apresentados em desafios de segmentação de células promovidos pelo *IEEE International Symposium on Biomedical Imaging*. Nestes artigos, as regiões individuais dos núcleos e citoplasmas foram obtidas em imagens com várias células cervicais sobrepostas.

Lu, Carneiro e Bradley (2015) propuseram um algoritmo com três etapas para segmentar os núcleos e citoplasmas. O objetivo da primeira etapa é segmentar toda a massa citoplasmática e remover o fundo da imagem. Para isto, uma imagem com superpixels é gerada com o uso do algoritmo *quick shift* e as bordas desta imagem são extraídas. Para todos os segmentos de bordas conectados são obtidos os respectivos *convex hulls*, os quais são utilizados em uma classificação binária em que as classes são a massa citoplasmática e o fundo da imagem. Os autores consideram que estas classes (ou regiões) seguem uma distribuição de Mistura de Gaussianas e assim, a fase de treinamento consiste em estimar os parâmetros desta distribuição para cada classe.

Considerando que os pixels dentro das regiões de *convex hull* pertencem à classe da massa

citoplasmática e os pixels fora pertencem à classe do fundo da imagem, os autores utilizam os respectivos valores dos pixels das imagens para realizar uma estimativa inicial dos parâmetros. Com base nesta informação, cada pixel de uma imagem é classificado usando a razão de verossimilhança (BISHOP, 2006) entre as duas classes. Os resultados obtidos são utilizados para estimar novos parâmetros de ambas as classes e uma nova classificação é realizada, sendo que isto se repete até o processo convergir.

Na segunda etapa, o método *Maximally Stable Extremal Regions* (MSER) (MATAS *et al.*, 2004) é utilizado para detectar componentes conectados estáveis, os quais representam segmentos candidatos a núcleos. Os resultados destes segmentos são refinados com o algoritmo *level set* (LI *et al.*, 2010) e em seguida, os verdadeiros segmentos de núcleos são selecionados com base em limiares das seguintes características: excentricidade, área, média dos valores dos pixels e a relação entre a área do segmento e a área da região da massa citoplasmática que o segmento está inserido.

A terceira etapa consiste em obter as regiões individuais dos citoplasmas. Os autores utilizam uma abordagem baseada em uma otimização de múltiplas funções de *level set*, em que cada função representa um citoplasma. Para obter uma segmentação inicial, requerida por cada função de *level set*, os autores utilizam informações dos núcleos e da massa citoplasmática.

2.3 Conclusão do capítulo

Neste capítulo foi contextualizado o problema do câncer cervical e apresentado o exame de Papanicolaou, o qual é utilizado para o diagnóstico das lesões que precedem este câncer. Neste exame, algumas informações como alterações no tamanho, forma e cor do núcleo bem como a relação entre núcleo e citoplasma são utilizadas pelos citopatologistas para o diagnóstico. Porém, a avaliação tradicional é demorada e a fadiga causada pela observação de várias lâminas ocasiona erros no diagnóstico. Assim, neste capítulo, também foram apresentados métodos computacionais, encontrados na literatura, que visam auxiliar o diagnóstico do câncer cervical por meio de processamento de imagens. O próximo capítulo apresenta a formulação original de um algoritmo de segmentação de imagens conhecido por *level set* e uma proposta de uma versão rápida deste algoritmo.

SEGMENTAÇÃO DE IMAGENS VIA MÉTODOS *Level Set*

Técnicas de contornos ativos têm alcançado resultados satisfatórios em problemas de segmentação de imagens. Tais técnicas são baseadas em modelos deformáveis em que uma curva inicial evolui sob a influência de forças até que algum critério de convergência seja satisfeito. Em outras palavras, uma curva inicial se propaga ao longo do tempo a fim de delimitar uma região de interesse.

De acordo com Delingette e Montagnat (2001), os algoritmos de contornos ativos podem ser classificados em explícitos ou implícitos. No primeiro caso, como o próprio nome indica, os pontos que pertencem à curva são definidos explicitamente. Também são conhecidos por contornos ativos paramétricos e têm a técnica *snake* como seu principal representante. Por outro lado, os contornos ativos implícitos também podem ser denominados por contornos ativos geométricos e têm o método *level set* como principal representante. Nesta categoria, os pontos da curva são obtidos a partir de uma curva de nível de uma superfície de maior dimensionalidade.

Uma das principais vantagens em utilizar técnicas de *level set* se dá pelo fato que tal técnica é capaz de tratar eficazmente mudanças topológicas que, eventualmente, podem surgir no decorrer da propagação da curva. Devido a sua eficácia e versatilidade, métodos *level set* são amplamente utilizados em várias áreas das ciências como, por exemplo, mecânica dos fluidos, crescimento de cristais, geometria computacional, ciência dos materiais, processamento de imagens e visão computacional (NAPOLITANO, 2004).

Este capítulo inicialmente introduz a proposta original do método *level set* que fornece resultados de segmentação binária. A formulação original tem um alto custo computacional e, portanto, implementações rápidas de *level set* foram propostas por Li *et al.* (2005), Shi e Karl (2005), Bresson *et al.* (2007), Lellmann e Schnorr (2011) e Chambolle, Cremers e Pock (2012). Porém, estes algoritmos rápidos requerem parâmetros empíricos para tratar a regularização da curva por meio de filtragem passa-baixa. Com isso, neste capítulo, além da introdução da

técnica *level set*, é proposto um algoritmo rápido de *level set* que serve como uma alternativa computacionalmente viável para a formulação original e para as versões rápidas e paramétricas de *level set*.

3.1 O algoritmo *level set* original

Sendo $Z: \Theta \rightarrow \mathbb{R}^2$ uma imagem, métodos de segmentação visam obter um conjunto de N regiões $\mathcal{R} = \{\Omega_i; \Omega_i \subset \Theta\}_{i \in [1, N]}$, as quais são disjuntas ($\Omega_i \cap \Omega_j = \emptyset, i \neq j$) e cobrem o domínio ($\cup_{i=1}^N \Omega_i = \Theta$).

Em métodos *level set*, o conjunto de regiões $\mathcal{R}$ é determinado a partir de soluções de modelos variacionais (MUMFORD; SHAH, 1989), em que a energia de um sistema dinâmico é minimizada em conformidade com uma função custo (f_c).

A teoria de *level set* formulada por Sethian (1999) é baseada na equação de Hamilton-Jacobi e afirma que uma frente ou curva fechada $\vec{\phi}$, como a da Figura 5, se propaga devido a um campo de velocidades ($\pm F\vec{\eta}$), em que $(\pm\vec{\eta})$ é o vetor unitário que é perpendicular a $\vec{\phi}$.

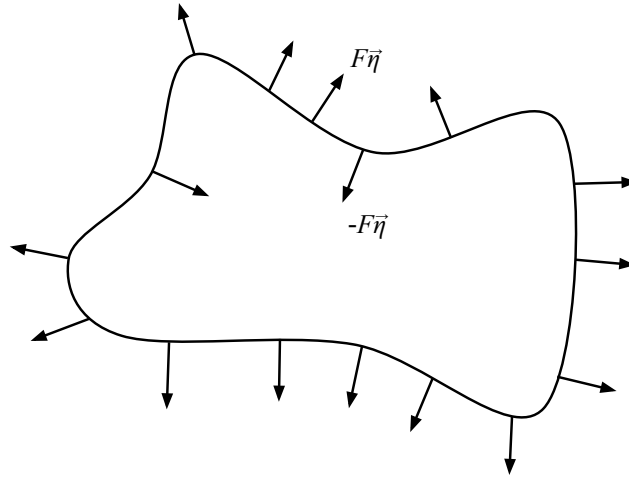


Figura 5: Frente ou curva fechada $\vec{\phi}$ submetida a um campo de velocidades ($\pm F\vec{\eta}$).

No domínio contínuo, o movimento de uma frente $\vec{\phi}: \mathbb{R}^2 \times \mathbb{R}^+ \rightarrow \mathbb{R}$ é consequência do movimento da superfície ψ , na qual $\vec{\phi}$ está inserida de acordo com:

$$\vec{\phi}(s, t) = \{\mathbf{x} | \psi(\mathbf{x}, t) = 0\}, \quad (3.1)$$

em que $s \in \mathbb{R}^2$ representa as coordenadas da frente $\vec{\phi}$, $\mathbf{x} \in \mathbb{R}^2$ representa as coordenadas da superfície ψ e $t \in \mathbb{R}^+$ é o tempo de evolução.

A Figura 6 exemplifica o movimento da frente e da superfície na técnica *level set*,

em que as setas indicam a ordem do processo. A partir da frente inicial $\vec{\phi}(s, t = 0)$ (superior-esquerdo) a função de *level set* zero é computada, resultando na superfície inicial $\psi(\mathbf{x}, t = 0)$ (superior-direito), em que $\vec{\phi}(s, t = 0) = \{\mathbf{x} | \psi(\mathbf{x}, t = 0) = 0\}$. Segundo um modelo de propagação, esta superfície evolui ao longo do tempo gerando uma nova superfície $\psi(\mathbf{x}, t)$ (inferior-esquerdo) e o novo estado da frente pode ser obtido por $\vec{\phi}(s, t) = \{\mathbf{x} | \psi(\mathbf{x}, t) = 0\}$ (inferior-direito). Assim, em técnicas de *level set*, uma curva fechada $\vec{\phi}(s, t)$ é representada implicitamente como o nível zero de uma função *level set* $\psi(\mathbf{x}, t)$, a qual consiste de um conjunto de curvas de níveis que variam de um nível inferior negativo até um nível superior positivo. Por convenção, considera-se $\Omega_1 = \{\mathbf{x} | \psi(\mathbf{x}, t) > 0\}$ e $\Omega_2 = \{\mathbf{x} | \psi(\mathbf{x}, t) < 0\}$.

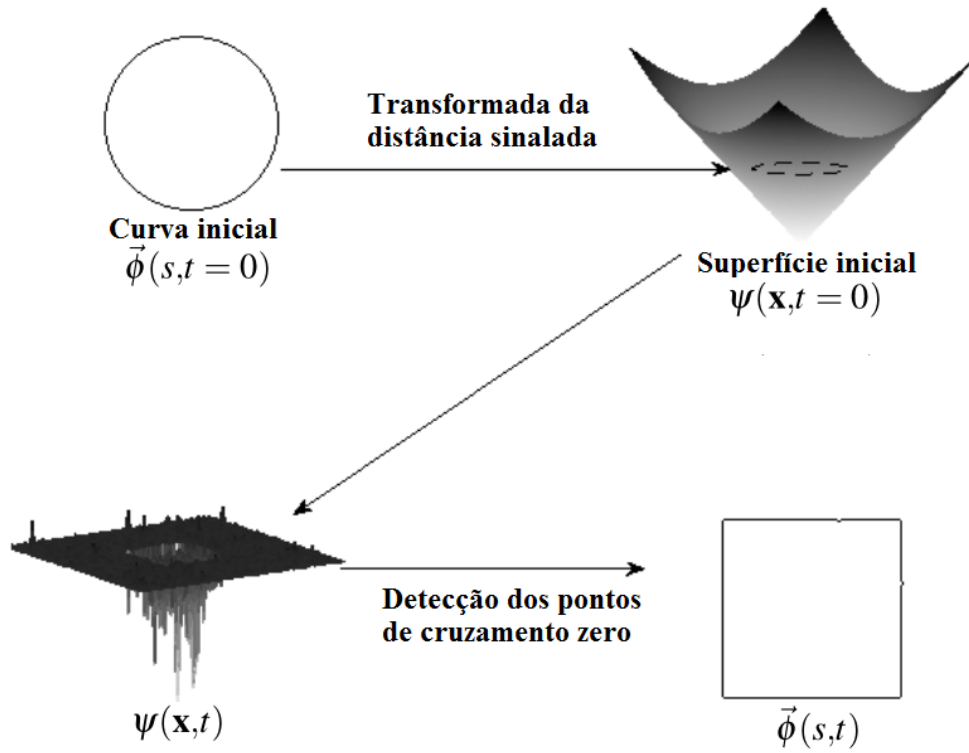


Figura 6: Processo de evolução da técnica *level set*. A partir de uma curva inicial $\vec{\phi}(s, 0)$ é computada uma superfície inicial $\psi(\mathbf{x}, 0)$, a qual evolui segundo um modelo de propagação a fim de delimitar uma região de interesse, que neste caso consiste em uma região com forma de um quadrado.

A equação que descreve a evolução da função *level set* pode ser obtida derivando parcialmente a expressão $\psi(\mathbf{x}, t) = 0$, da Eq. (3.1), com relação ao tempo t e utilizando a regra da cadeia. Assim, tem-se que:

$$\frac{\partial \psi}{\partial \mathbf{x}} \frac{\partial \mathbf{x}}{\partial t} + \frac{\partial \psi}{\partial t} = 0, \quad (3.2)$$

e portanto,

$$\nabla \psi \frac{\partial \mathbf{x}}{\partial t} + \frac{\partial \psi}{\partial t} = 0, \quad (3.3)$$

em que ∇ é o operador gradiente espacial. Cada ponto da superfície está sujeito a uma força, normal à curva, que gera um movimento de propagação na mesma direção. Tal movimento pode ser expresso como

$$\psi_t = \frac{\partial \mathbf{x}}{\partial t} \vec{\eta}, \quad (3.4)$$

em que $\vec{\eta}$ é o vetor normal à superfície dado por

$$\vec{\eta} = \frac{\nabla \psi}{|\nabla \psi|}. \quad (3.5)$$

Substituindo as Eqs. (3.4) e (3.5) na Eq. (3.3) obtém-se a equação para evolução temporal da função *level set*, dada por

$$\frac{\partial \psi}{\partial t} + \psi_t |\nabla \psi| = 0. \quad (3.6)$$

No domínio discreto o processo de evolução pode ser expresso como (SETHIAN, 1999)

$$\psi^{k+1} = \psi^k - \Delta t (\psi_t |\nabla \psi^k|), \quad (3.7)$$

em que ψ^k é a função de *level set*, Δt é o passo de tempo, ψ_t é a função de evolução, e o operador $|\nabla \psi^k|$ representa a magnitude do gradiente.

Tradicionalmente, ψ^0 é a transformada da distância sinalada de uma família inicial de curvas fechadas ou de uma curva inicial fechada $\vec{\phi}(s, t = 0)$, gerando portanto uma superfície composta por curvas de níveis que variam de um nível inferior negativo até um nível superior positivo, como a superfície cônica exemplificada na Figura 6. A cada iteração k do processo, a frente pode ser obtida detectando os pontos do nível zero desta superfície.

A função de evolução da frente é composta por um termo de regularização derivado da curvatura de ψ^k , um termo de advecção, e um termo de propagação (ou velocidade) F . Como o termo de advecção não é comumente usado em aplicações de segmentação, a função de evolução é definida como

$$\psi_t = F + \varepsilon \mathcal{K}, \quad (3.8)$$

em que $\varepsilon \in \mathbb{R}$ é uma constante de normalização, enquanto a curvatura de ψ^k é definida como

$$\mathcal{K} = \frac{\psi_{xx}\psi_y^2 - 2\psi_x\psi_y\psi_{xy} + \psi_{yy}\psi_x^2}{\sqrt{(\psi_x^2 + \psi_y^2)^3}}. \quad (3.9)$$

Os índices (x,y) e (xx,yy,xy) na Eq. (3.9) indicam as derivadas centrais de primeira e segunda ordem de ψ^k , respectivamente.

A fim de estabilizar a frente, a velocidade de propagação $F = \frac{d\vec{\phi}}{dt}$, deve minimizar uma função custo f_c de acordo com a equação diferencial parcial:

$$\frac{d\vec{\phi}}{dt} = -\frac{\partial f_c}{\partial \vec{\phi}}. \quad (3.10)$$

A escolha da velocidade de propagação F deve estar diretamente relacionado ao problema de segmentação abordado, e pode ser derivada de propriedades geométricas como as bordas da imagem e atributos de forma, ou ainda, de propriedades independentes da geometria, como textura e informação estatística da imagem (MARQUES, 2011).

A solução geral da Eq. (3.10), para um método *level set* com duas fases, ou seja, para a binarização de uma imagem é

$$F = F_1(\vec{\eta}) + F_2(-\vec{\eta}), \quad (3.11)$$

em que F_1 e F_2 são as componentes da velocidade de propagação. O sinal do vetor normal $(\vec{\eta})$ define o sentido da componente da velocidade, e portanto quando $F(\mathbf{x}) > 0$, a frente inclui o ponto $\mathbf{x}$ na região Ω_1 e quando $F(\mathbf{x}) < 0$, a frente inclui o ponto $\mathbf{x}$ na região Ω_2 .

A implementação numérica da Eq. (3.7) é dada por (SETHIAN, 1999)

$$\psi^{k+1} = \psi^k - \Delta t [\max(F,0)\Delta^+ + \min(F,0)\Delta^- + \varepsilon \mathcal{K} |\nabla \psi^k|], \quad (3.12)$$

em que Δ^+ e Δ^- são computados a partir dos operadores de derivadas à direita e à esquerda de ψ^k . Sendo $\mathbf{x} = (i,j)$ um par de coordenadas de ψ^k , os operadores D_{ij}^{+x} e D_{ij}^{-x} indicam, respectivamente, as derivadas à direita e à esquerda em relação ao eixo horizontal e são calculados por

$$D_{ij}^{+x} = \psi_{i+1,j}^k - \psi_{i,j}^k \quad (3.13)$$

e

$$D_{ij}^{-x} = \psi_{i,j}^k - \psi_{i-1,j}^k. \quad (3.14)$$

Similarmente, os operadores D_{ij}^{+y} e D_{ij}^{-y} denotam, respectivamente, as derivadas à direita e à esquerda em relação ao eixo vertical e são dados por

$$D_{ij}^{+y} = \psi_{i,j+1}^k - \psi_{i,j}^k \quad (3.15)$$

e

$$D_{ij}^{-y} = \psi_{i,j}^k - \psi_{i,j-1}^k. \quad (3.16)$$

Finalmente, Δ^+ e Δ^- da Eq. (3.12) são definidos por

$$\Delta^+ = (\max(D_{ij}^{-x}, 0)^2 + \min(D_{ij}^{+x}, 0)^2 + \max(D_{ij}^{-y}, 0)^2 + \min(D_{ij}^{+y}, 0)^2)^{1/2} \quad (3.17)$$

e

$$\Delta^- = (\max(D_{ij}^{+x}, 0)^2 + \min(D_{ij}^{-x}, 0)^2 + \max(D_{ij}^{+y}, 0)^2 + \min(D_{ij}^{-y}, 0)^2)^{1/2}. \quad (3.18)$$

3.2 Modelo de verossimilhança para evolução do *level set*

O teorema de Bayes desempenha um papel importante na solução de problemas de otimização, e também fornece um esquema consistente para classificação de dados. A Regra de decisão de Bayes para problemas de reconhecimento e classificação de padrões pode ser expressa por (BISHOP, 2006)

$$P(z_0|\Omega_1)P(\Omega_1) \underset{z_0 \in \Omega_2}{\overset{z_0 \in \Omega_1}{>}} P(z_0|\Omega_2)P(\Omega_2), \quad (3.19)$$

em que z_0 é um pixel a ser classificado, enquanto $P(\Omega_1)$ e $P(\Omega_2)$ denotam as probabilidades *a priori* para as classes 1 e 2, respectivamente. Para classes equiprováveis, $P(\Omega_1) = P(\Omega_2)$, a solução para o problema de classificação é alcançada maximizando a probabilidade de cada pixel z_0 pertencer à classe 1 ou à classe 2, ou seja, maximizando as funções densidade de probabilidade ou funções de verossimilhança $P(z_0|\Omega_1)$ e $P(z_0|\Omega_2)$. Esta abordagem se relaciona com sistemas variacionais, que visam conduzir um sistema para uma condição estacionária ao minimizar ou maximizar um funcional. A aplicação do teorema de Bayes para modelagem de sistemas variacionais é demonstrada em Ayed, Mitiche e Belhadj (2005).

Neste trabalho, considera-se que as regiões da imagem seguem uma distribuição Normal e o modelo de verossimilhança para evolução do *level set* apresentado em Mitiche e Ayed (2010) é utilizado para segmentar a imagem. Para o caso de duas regiões, o modelo é definido por

$$\mathcal{L}(\mathcal{R}|\Theta, P) = \sum_{i=1}^2 \int_{\Omega_i} -\log P(\Theta|\Omega_i), \quad (3.20)$$

em que os índices 1 e 2 denotam as classes (ou regiões) interna (Ω_1) e externa (Ω_2), respectivamente. $\mathcal{R}$ e Θ foram anteriormente definidos na Seção 3.1. Então, o problema de minimização da Eq. (3.10), para $f_c = \mathcal{L}(\mathcal{R}|\Theta, P)$, determina uma divisão da imagem que maximiza a verossimilhança.

Assim, a propagação da frente segue o modelo:

$$\frac{d\vec{\phi}}{dt} = -\frac{\partial \mathcal{L}(\mathcal{R}|\Theta, P)}{\partial \vec{\phi}} = -\log \left(\frac{P(\Theta|\Omega_1)}{P(\Theta|\Omega_2)} \right) \vec{\eta}. \quad (3.21)$$

De acordo com a Eq. (3.11), o modelo de propagação para a distribuição Normal é

$$F = \log f_{\mathcal{N}}(z_0; \mu_1, \sigma_1^2) \vec{\eta} - \log f_{\mathcal{N}}(z_0; \mu_2, \sigma_2^2) \vec{\eta}, \quad (3.22)$$

em que os parâmetros (μ_1, σ_1^2) e (μ_2, σ_2^2) representam as médias e as variâncias para as regiões Ω_1 e Ω_2 , respectivamente.

Dado este termo de propagação, o algoritmo *level set* segmenta as imagens com base na regra de decisão Bayesiana. Em cada iteração k da Eq. (3.7), as funções de verossimilhança ou funções densidade de probabilidade $f_{\mathcal{N}}$ da Eq. (3.22), exemplificadas na Figura 7, são computadas com base na média e na variância de cada região.

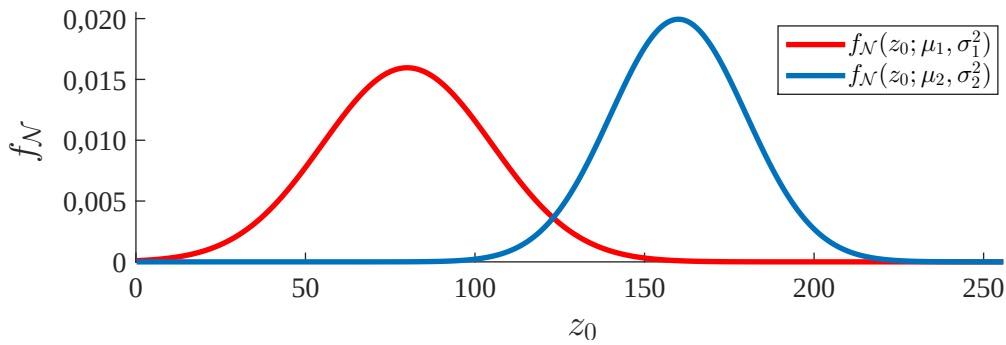


Figura 7: Exemplo de funções de verossimilhança das regiões Ω_1 e Ω_2 em uma dada iteração k do processo de evolução do *level set*.

A velocidade resultante F define como a frente se deforma e em qual sentido cada ponto

desta frente seguirá. Um valor de F positivo indica que a função de verossimilhança de um pixel z'_0 é maior para a região Ω_1 do que para a região Ω_2 , ou seja, $P(z'_0|\Omega_1) > P(z'_0|\Omega_2)$. Neste caso, como pode ser observado na Figura 8, a velocidade F faz com que a frente cresça incluindo o pixel z'_0 para a região Ω_1 . Por outro lado, um valor de F negativo para uma pixel z''_0 indica que $P(z''_0|\Omega_1) < P(z''_0|\Omega_2)$ e a frente inclui o pixel z''_0 para a região Ω_2 .

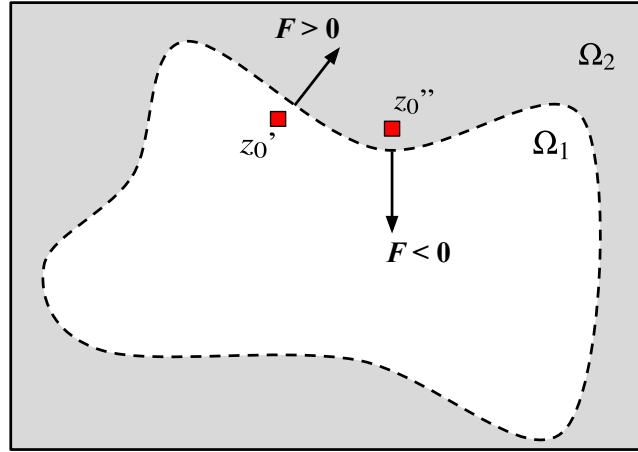


Figura 8: Exemplo da propagação da frente com base na velocidade resultante F .

3.3 Algoritmo rápido de *level set* proposto

O algoritmo rápido de *level set* proposto inclui conexões teóricas entre filtros da mediana, operadores de morfologia matemática e equações diferenciais parciais geométricas. Estas conexões teóricas foram introduzidas por Caselles, Sapiro e Chung (2000) e estão em conformidade com estudos de morfologia matemática relatados por Serra (1982) e Serra (1988). Caselles, Sapiro e Chung (2000) mostraram que o processo de iteração do filtro da mediana é equivalente a resolver a equação diferencial parcial geométrica (EDP) dada por (CASELLES; SAPIRO; CHUNG, 2000)

$$f(\psi) = \mathcal{K} |\nabla \psi|, \quad (3.23)$$

em que $\mathcal{K}$ é descrito pela Eq. (3.9) e $|\nabla \psi|$ é a magnitude do gradiente.

A formulação original da técnica *level set*, dada pela Eq. (3.12), utiliza a EDP da curvatura para fins de regularização da frente. Como visto na Seção 3.1, o cômputo de $\mathcal{K}$ envolve derivadas de primeira e segunda ordem, o que é computacionalmente demorado. A fim de reduzir o custo computacional, implementações rápidas de *level set* foram propostas por Li *et al.* (2005), Shi e Karl (2005), Bresson *et al.* (2007), Lellmann e Schnorr (2011) e Chambolle,

Cremers e Pock (2012). Porém, estes algoritmos rápidos requerem parâmetros empíricos para tratar a regularização da curva por meio de filtragem passa-baixa. Com isso, a fim de fornecer uma solução alternativa para estes algoritmos, o algoritmo *level set* proposto utiliza o filtro da mediana, que consiste de um filtro não paramétrico, para regularizar a frente ao invés de utilizar a curvatura $\mathcal{K}$.

A principal razão para utilizar o filtro da mediana de forma iterativa para fins de regularização é que este filtro consegue uma redução significativa do tempo computacional sem suavizar o sinal excessivamente. Além disso, o algoritmo rápido proposto adota o gradiente morfológico para evitar possíveis inconsistências ao se calcular derivadas numéricas. Assim, o algoritmo proposto evolui sob o modelo

$$\psi_{\bar{r}}^{k+1} = \psi^k + \Delta t \left[\max(F, 0)(\psi^k \oplus E) - \min(F, 0)(\psi^k \ominus E) \right], \quad (3.24)$$

em que $\psi_{\bar{r}}$ refere-se à superfície não regularizada e E é um elemento estruturante com forma de disco de raio 1. Os operadores $\oplus$ e $\ominus$ representam as operações morfológicas de dilatação e erosão, respectivamente. O raio do elemento estruturante pode ser ajustado. Porém, raios de valores maiores do que 1 causam excessivo borramento do gradiente morfológico. Após o cômputo de $\psi_{\bar{r}}$, a superfície é regularizada por

$$\psi^{k+1} = \text{MedFilt}_4 \left[\psi_{\bar{r}}^{k+1} \right], \quad (3.25)$$

em que o operador $\text{MedFilt}_4[\cdot]$ indica uma filtragem mediana com uma vizinhança de conectividade 4. O filtro é computado em uma vizinhança com 4 conexões, como na regularização clássica por curvatura, que é resolvida pela utilização de derivadas verticais e horizontais. Em comparação com um filtro da mediana de conectividade 8, MedFilt_4 melhora a acurácia do método e a detecção de pontos de alta curvatura. Além do mais, um *kernel* de vizinhança 4 reduz o custo computacional na aplicação do filtro da mediana.

O processo de segmentação por meio da técnica *level set* não envolve diretamente a imagem, mas um modelo de propagação F derivado das propriedades da imagem (MARQUES, 2011). Nesta dissertação, F é computado com base no modelo de verossimilhança descrito na Seção 3.2, sendo que F e a função de *level set* ψ^k são matrizes com as mesmas dimensões da imagem. Na técnica *level set* proposta, ao contrário da técnica original que utiliza a transformada da distância sinalada de um estado inicial $\vec{\phi}(s, 0)$, o processo é inicializado com uma superfície ou função *level set* zero, dada por (ZHU *et al.*, 2007)

$$\psi^0(\mathbf{x}) = \begin{cases} 1, & \mathbf{x} \in \Omega_1 \\ 0, & \mathbf{x} \in \vec{\phi}(s,0) \\ -1, & \mathbf{x} \in \Omega_2 \end{cases} \quad (3.26)$$

em que Ω_1 e Ω_2 são as regiões interna (*foreground*) e externa (*background*) da frente inicial $\vec{\phi}(s,0)$, respectivamente. Como na abordagem tradicional, a região interna desta superfície pode ser composta por um único elemento ou por vários elementos desconectados, os quais podem se unir ou se dividir durante a evolução, a fim de delimitar a região de interesse. A Figura 9 ilustra dois exemplos de *level set* zero em que $\vec{\phi}(s,0)$ está em vermelho, Ω_1 em branco e Ω_2 em preto. A Figura 9a mostra um *level set* zero em que Ω_1 é composto por apenas um elemento e a Figura 9b exibe um *level set* zero em que Ω_1 é composto por vários elementos desconectados.

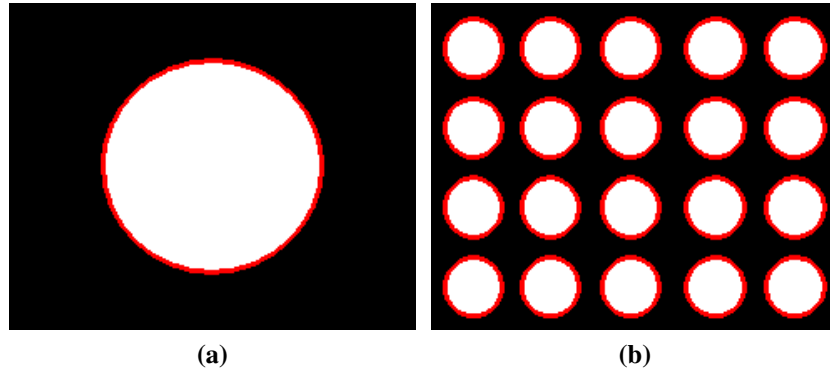


Figura 9: Exemplo de dois possíveis estados da superfície inicial ou *level set* zero: (a) com apenas um elemento; e (b) com vários elementos desconectados.

Um *level set* zero formado por vários círculos distribuídos uniformemente, como o da Figura 9b, normalmente é utilizado quando não se tem uma segmentação prévia da região de interesse e pode ser utilizado para detectar diferentes tipos de objetos, independente de formato, posição e tamanho. Porém, vale ressaltar que o uso de uma segmentação prévia da região de interesse como *level set* zero faz com que o processo convirja mais rápido.

A Figura 10 mostra a segmentação de uma imagem sintética contaminada artificialmente com ruído Gaussiano. A Figura 10a mostra o histograma da imagem ruidosa e a Figura 10b mostra a imagem ruidosa e a frente inicial. As Figuras 10c-10g ilustram estágios intermediários do processo de segmentação. Os resultados finais obtidos pelo método rápido de *level set* proposto e pelo método *level set* original são apresentados nas Figuras 10h e 10i, respectivamente. Ambos os métodos foram executados com um passo de tempo $\Delta t = 0,5$ e com parâmetros da distribuição Normal $\mu_1 = 90$ e $\mu_2 = 170$, os quais foram estimados visualmente no histograma da imagem enquanto que as variâncias σ_1^2 e σ_2^2 foram calculadas durante as iterações. Adicionalmente, o método original utilizou uma constante de normalização $\varepsilon = 0,5$.

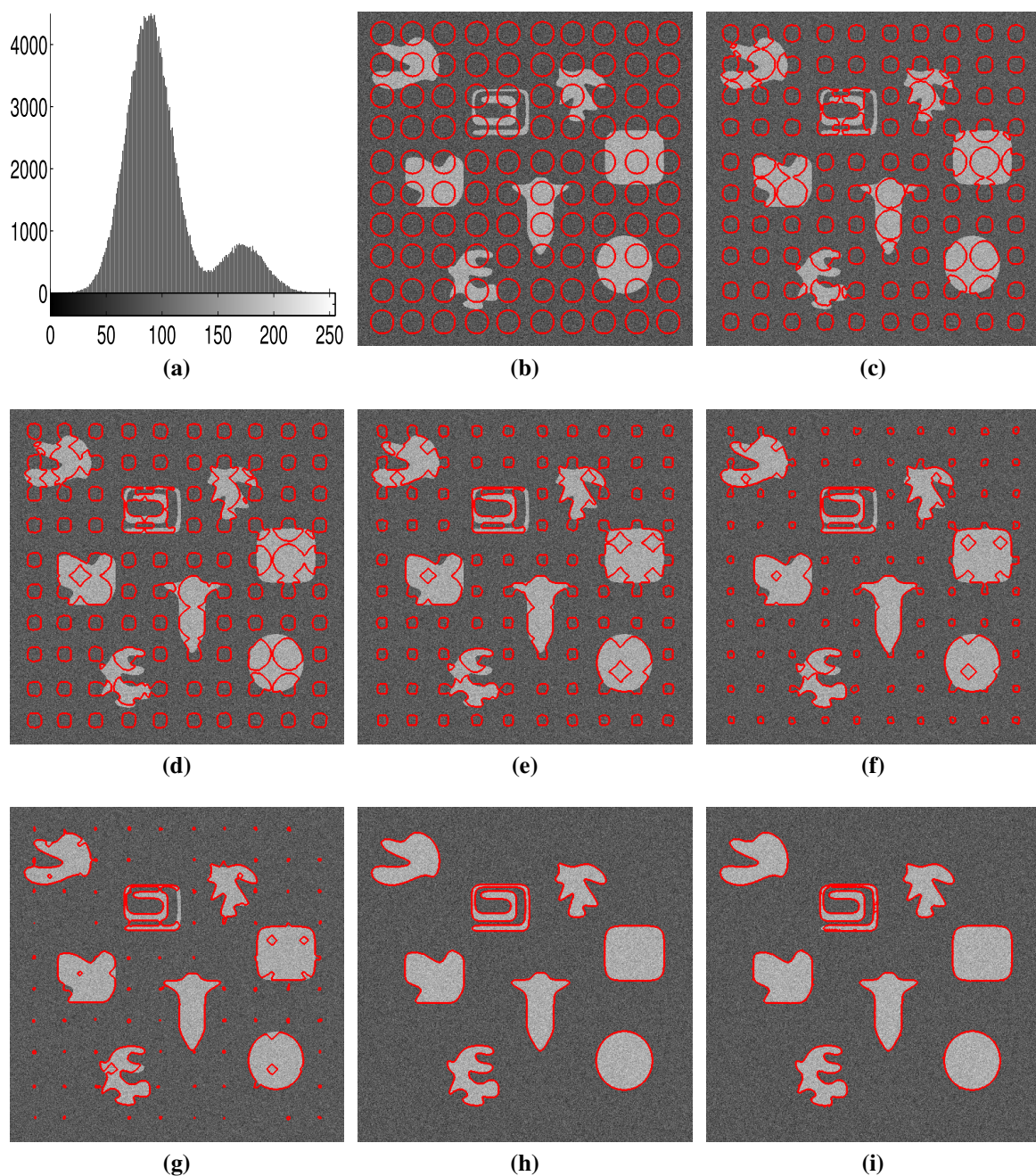


Figura 10: Segmentação utilizando a técnica *level set*: (a) histograma da imagem ruidosa; (b) imagem ruidosa e frente inicial; (c)-(g) estágios intermediários do processo de segmentação; e (h)-(i) resultados finais obtidos pelo *level set* proposto e pelo *level set* original, respectivamente.

Como pode ser observado na Figura 10, ambos os métodos alcançaram resultados similares. No entanto, o tempo de computação do método proposto foi de 5,27 s, enquanto que o método original levou 40,65 s para segmentar a imagem.

3.4 Conclusão do capítulo

Neste capítulo, primeiramente foi introduzido o algoritmo *level set* original que alcança resultados satisfatórios em problemas de segmentação de imagens. A formulação original tem um alto custo computacional e portanto, neste capítulo, também foi proposto um algoritmo rápido de *level set* baseado no filtro da mediana. Desde que este algoritmo apenas gera resultados de segmentação binária, o próximo capítulo apresenta uma adaptação do *level set* proposto para segmentar imagens com várias regiões. Adicionalmente, o capítulo seguinte apresenta um método para inicializar o método *level set* de forma adequada.

SEGMENTAÇÃO HIERÁRQUICA POR MEIO DA ANÁLISE MULTIESCALA DE HISTOGRAMAS

No capítulo 3 foi introduzida a teoria de *level set*, além da proposta de um algoritmo rápido, que evita a solução tradicional por equações diferenciais e regularização por curvatura. Neste capítulo são apresentadas duas propostas. Primeiramente, um método para inicialização da superfície de *level set*, baseado na análise multiescala do histograma da imagem. Por fim, uma adaptação do método *level set* binário para segmentação de múltiplas regiões, por meio de uma abordagem hierárquica.

4.1 Detecção de grupos para inicialização do *level set*

Algoritmos de segmentação de imagens que requerem informação sobre o número de grupos e seus centróides são propensos a fornecer diferentes resultados, se os centróides forem escolhidos de forma aleatória. Assim, sem uma estimativa adequada dos centróides iniciais, a abordagem mais provável para alcançar resultados de segmentação satisfatórios é agrupar os pixels da imagem em várias iterações.

A fim de iniciar de forma adequada o algoritmo *level set*, proposto no Capítulo 3, sem obter informações dos grupos aleatoriamente, é proposto um algoritmo eficiente para estimar grupos de uma imagem (ou região). Inspirado por Paula Jr. *et al.* (2012), o algoritmo estima o número de grupos e seus centróides de acordo com os picos que são identificados no histograma da imagem. Adicionalmente, o método detecta picos em diferentes escalas do histograma que apontam para os grupos dominantes da imagem.

Os passos do método proposto são apresentados na Figura 11. Primeiramente, o histograma original é suavizado sucessivamente para eliminar pequenas variações, por meio de um filtro Gaussiano 1-D. Em seguida, o histograma suavizado W_0 na Figura 11a é decomposto e

correlacionado com o primeiro nível de coeficientes de detalhes da *wavelet à trous* W_1 . A correlação na Figura 11b é dada por: $corr_0 = W_0 \cdot W_1$ (PAULA JR. *et al.*, 2012). O sinal de correlação é então comparado com o módulo do primeiro nível de coeficiente de detalhes *wavelet* e os pontos que satisfazem a condição $corr_0 > |W_1|$ são mapeados no sinal filtrado, como a Figura 11c mostra. Cada conjunto de pontos na vizinhança de um pico representa um grupo, os quais são utilizados para estimar os centróides. Como o processo de suavização do histograma desloca os picos, os centróides são estimados no histograma original como sendo o ponto de máximo de cada conjunto de pontos, como a Figura 11d ilustra.

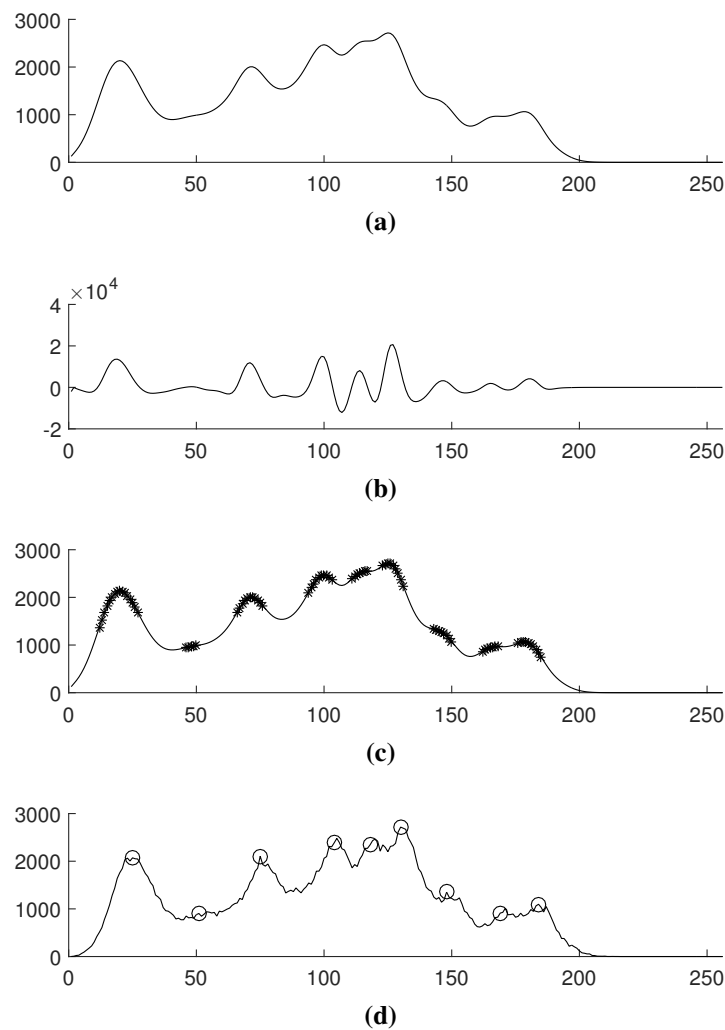


Figura 11: Detecção de grupos: (a) histograma suavizado; (b) sinal de correlação; (c) grupos detectados indicados por (*); e (d) histograma original com indicação dos centróides dos grupos (o).

Portanto, o algoritmo detector de grupos segue os seguintes passos:

1. obter o histograma da imagem;
2. suavizar sucessivamente o histograma original aplicando um filtro Gaussiano 1-D;

3. decompor o histograma suavizado (W_0) usando o algoritmo *à trous*;
4. correlacionar o sinal suavizado com o primeiro nível de coeficientes de detalhes da *wavelet à trous* (W_1), em que a correlação é dada por $corr_0 = W_0 \cdot W_1$;
5. mapear no sinal filtrado pontos que satisfazem a condição $corr_0 > |W_1|$;
6. considerar cada conjunto de pontos na vizinhança de um pico como um grupo;
7. estimar os centróides, no histograma original, como sendo o ponto de máximo de cada conjunto de pontos.

A filtragem Gaussiana atribui ao método uma característica multiescala devido ao fato que diferentes níveis de suavização produzem diferentes resultados na detecção dos grupos. Neste trabalho, foi considerada uma janela Gaussiana 1-D com comprimento $L = 6\sigma$ (GONZALEZ; WOODS, 2002), em que σ é o valor do desvio padrão. Assim, essa representação espaço-escala tem apenas um parâmetro. A Figura 12a apresenta um histograma original e a Figura 12b sua versão filtrada com $\sigma = 2$ em que 8 grupos foram detectados. Na Figura 12c o histograma original foi filtrado com $\sigma = 3$ e 4 grupos foram detectados.

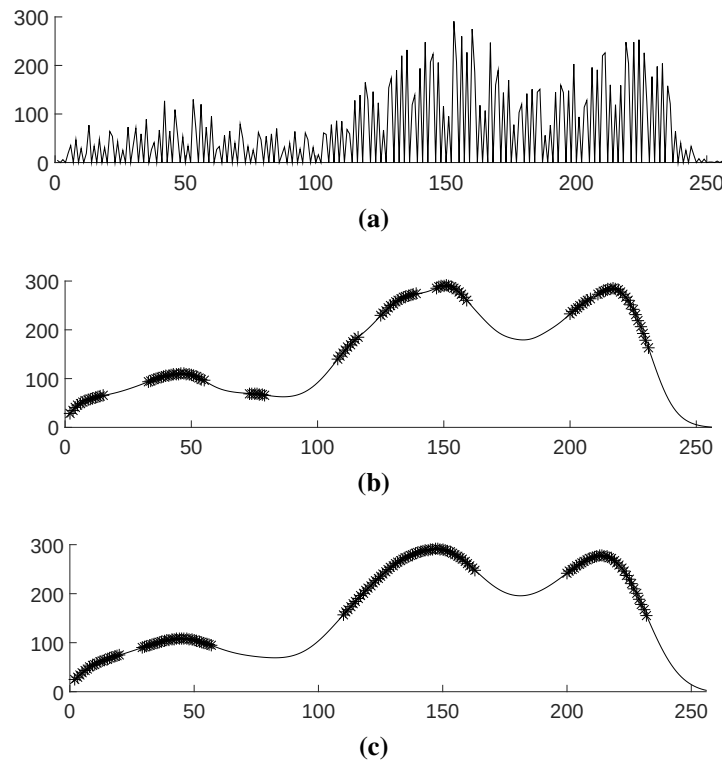


Figura 12: Detecção de grupos utilizando diferentes níveis de suavização: (a) histograma original e em (b) e (c) suas versões suavizados com $\sigma = 2$ e $\sigma = 3$, respectivamente.

Como pode ser observado na Figura 12, conforme o valor de σ aumenta o número de grupos diminui. Assim, neste trabalho é proposto que o valor de σ seja inicializado com 1,

e então incrementado automaticamente com passo 1 até que o algoritmo detecte dois grupos somente, em que seus centróides servirão como parâmetro de entrada para o algoritmo *level set*. Isso garante que o algoritmo *level set* sempre convirja para o mesmo resultado.

O algoritmo rápido de *level set*, proposto no Capítulo 3, também requer para sua inicialização uma superfície inicial (ou *level set* zero). Esta inicialização consiste em uma matriz de mesmas dimensões da imagem composta por duas regiões (*background* e *foreground*), sendo que o limite entre estas regiões representa a curva de propagação. A Figura 9 exemplifica dois possíveis estados da superfície inicial.

Neste trabalho, a superfície inicial do *level set* é obtida aplicando uma limiarização na imagem, em que o valor de limiar é o ponto médio entre os dois centróides detectados, como a Figura 13b ilustra. Assim, a região do *background* é formada pelos pixels cujos níveis de cinza estão acima do valor de limiar, enquanto a região do *foreground* é composta pelos pixels cujos níveis de cinza estão abaixo ou são iguais ao valor de limiar. A Figura 13c mostra a superfície inicial obtida a partir de uma limiarização da imagem da Figura 13a.

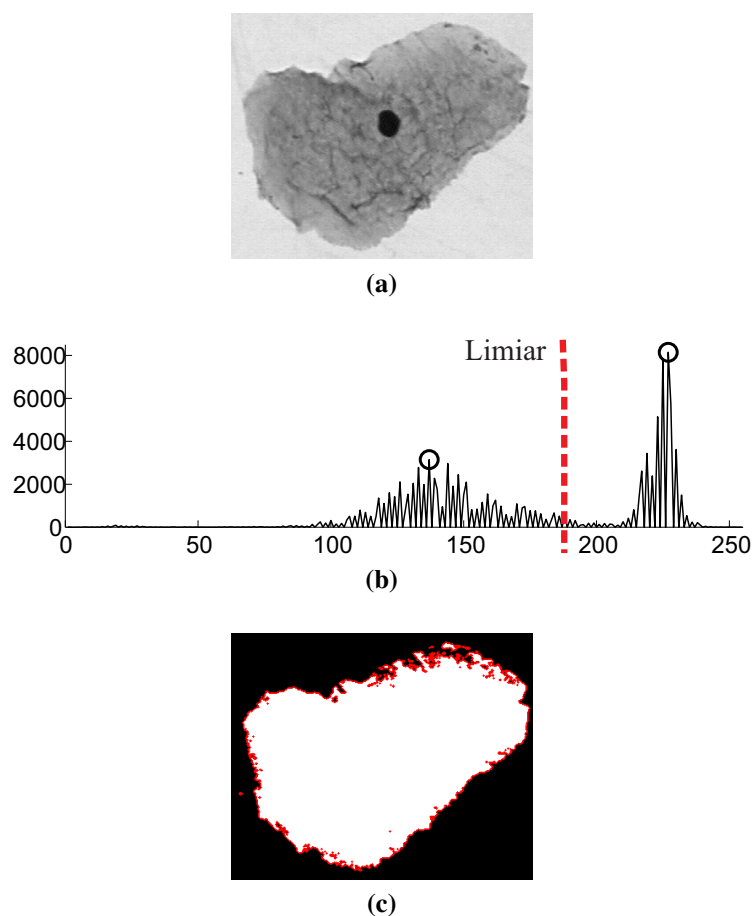


Figura 13: Obtenção da superfície inicial do *level set*: (a) imagem em níveis de cinza; (b) histograma da imagem com os dois centróides detectados, indicados por (o), e com o valor de limiar; e (c) superfície inicial obtida por meio de uma limiarização.

Como mencionado no Capítulo 3, é assumido que as regiões da imagem seguem uma distribuição Normal e portanto o valor de limiar sugerido não indica necessariamente uma divisão correta entre as duas regiões, uma vez que os dados das mesmas podem ter desvios padrões diferentes. Porém, o resultado da limiarização fornece uma superfície inicial mais próxima do resultado desejado, o que faz com que o algoritmo *level set* convirja em poucas iterações.

4.2 Implementação hierárquica da técnica *level set*

Algoritmos de agrupamento dividem uma amostra de dados em um número de grupos predefinido. Em imagens do teste de Papanicolau, devido a fatores que incluem sobreposição de células, coloração inconsistente, baixo contraste e células inflamadas, nem todas as imagens apresentam as três principais regiões (núcleo, citoplasma e fundo) claramente definidas. Por exemplo, algumas regiões do citoplasma, cujos pixels apresentam níveis de cinza mais baixos, podem ser agrupadas como regiões de núcleos. Por outro lado, algumas regiões do núcleo com valores mais altos de níveis de cinza podem ser agrupadas como regiões do citoplasma. Para obter resultados satisfatórios, algumas imagens precisam ser segmentadas em mais de três grupos, ou seja, o conhecimento do número de grupos da imagem é necessário, e configura um problema desafiador.

Assim, é proposta uma abordagem hierárquica com base no algoritmo rápido de *level set* binário, proposto no Capítulo 3, para segmentar imagens com células cervicais. A abordagem proposta segmenta recursivamente uma região em duas novas regiões, começando da imagem completa. Em cada passo do processo hierárquico, o algoritmo detector de grupos, descrito na Seção 4.1, é utilizado para estimar o número de grupos da atual região e uma nova divisão é efetuada apenas se dois ou mais grupos são detectados. O processo de segmentação termina quando não for mais possível realizar divisões, ou seja, quando o número de grupos em todas as regiões obtidas for igual a um.

Adicionalmente, a fim de identificar os núcleos, em cada passo do processo hierárquico, quatro características das regiões segmentadas são computadas. A intensidade dos pixels dos núcleos pode variar devido a possíveis mudanças causadas pelo HPV, coloração inconsistente e por sobreposições das células, ou seja, podem estar em diferentes grupos na imagem. Porém, comparadas às regiões do fundo e do citoplasma, as regiões dos núcleos são menores, mais escuras e circulares. Baseado nestas observações, o algoritmo identifica os núcleos com base em limiares das seguintes características:

1. área (A_n);
2. circularidade (C_n);
3. média dos pixels (μ_n);
4. diferença entre as médias dos pixels de um segmento e de sua vizinhança (D_n).

Os valores dos limiares foram obtidos a partir das verdades terrestres das imagens e empiricamente ajustados para cada banco de dados de imagens utilizados nos experimentos no Capítulo 5. Sabendo que cada região obtida pode ser composta por um ou mais segmentos separados, as características A_n , C_n , μ_n e D_n são computadas para cada segmento n de uma região.

A característica A_n indica o número total de pixels de um segmento. Para que um segmento seja considerado como núcleo, o valor de sua característica A_n deve estar entre um intervalo de mínimo e máximo valor ($A_{min} < A_n < A_{max}$).

A característica C_n é computada como

$$C_n = \frac{4\pi A_n}{P_n^2}, \quad (4.1)$$

em que P_n indica o perímetro. Os valores de circularidade C_n variam entre 0 e 1, sendo que o valor 1 corresponde a um círculo perfeito. Assim, a medida C_n para um segmento de núcleo deve ser maior que um valor de mínima circularidade ($C_n > C_{min}$). A característica μ_n indica a intensidade média dos valores dos pixels de um segmento. Em relação a essa característica, um segmento é considerado núcleo se sua característica μ_n for menor que um valor máximo estabelecido ($\mu_n < \mu_{max}$).

Alguns segmentos obtidos da região do citoplasma se assemelham com segmentos de verdadeiros núcleos, tendo suas características A_n , C_n e μ_n dentro dos limiares estabelecidos. No entanto, esses falsos núcleos são mais claros ou pouco mais escuros do que a sua vizinhança. Considerando o fato que, localmente, os núcleos são sempre mais escuros do que seu citoplasma, a característica $D_n = \mu_{viz} - \mu_n$ é utilizada para informar o grau de disparidade entre a média dos pixels do segmento e a média dos pixels de sua vizinhança (μ_{viz}), sendo que a vizinhança é determinada dentro do mínimo retângulo que contém o segmento (*bounding box*), como a Figura 14 mostra. Portanto, dada a ordem da subtração, um verdadeiro núcleo deve ter D_n com valor positivo e maior que um valor mínimo de disparidade ($D_n > D_{min}$).

Cada segmento identificado como núcleo é considerado como uma nova região no processo e caso esta região apresente dois ou mais grupos, uma nova divisão é realizada. Uma das novas

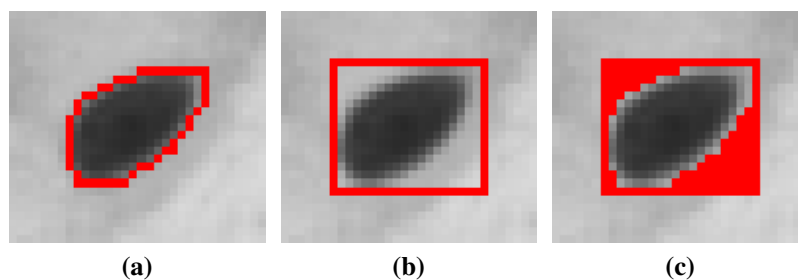


Figura 14: Obtenção da região de vizinhança: (a) contorno do segmento; (b) contorno do mínimo retângulo que contém o segmento (*bounding box*); e (c) vizinhança que consiste da região dentro do *bounding box* que não contém a região do segmento.

regiões obtidas também pode ser identificada como núcleo e assim, nestes casos, é considerado o núcleo que tiver a maior circularidade, como a Figura 15 ilustra. Isto faz com que alguns núcleos que não apresentam contornos precisos, sejam submetidos a um refinamento de seu resultado.

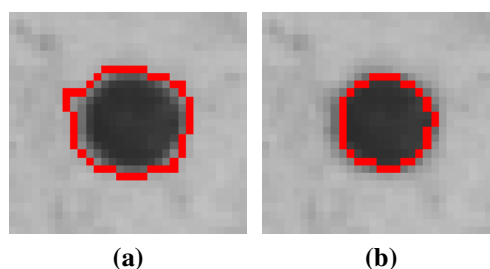


Figura 15: Refinamento do resultado de um núcleo: (a) primeiro núcleo identificado; e (b) segundo núcleo identificado, com uma maior circularidade, obtido a partir da divisão do primeiro núcleo.

A Figura 16 mostra o processo de segmentação hierárquica. O procedimento principal é ilustrado na Figura 16a, em que a região externa à curva e os segmentos da região interna à curva, obtidos a partir da primeira divisão (segmentação da imagem completa), são recursivamente divididos em novas regiões. Os dois testes usados como critério de divisão e identificação dos núcleos são apresentados na Figura 16b.

A Figura 17 exemplifica as divisões recursivas da imagem utilizada no processo da Figura 16. Neste exemplo, a região de toda a massa citoplasmática foi obtida adequadamente na primeira divisão. Porém, em algumas imagens, os pixels mais externos do citoplasma são agrupados juntamente com os pixels do fundo da imagem. Nestes casos, a região externa à curva geralmente apresenta dois ou mais grupos e uma nova divisão é efetuada, em que os pixels restantes dos citoplasmas são delimitados pela curva. Portanto, de uma forma geral, a massa citoplasmática consiste da união de todos os segmentos internos à curva, que não são núcleos, obtidos no processo hierárquico.

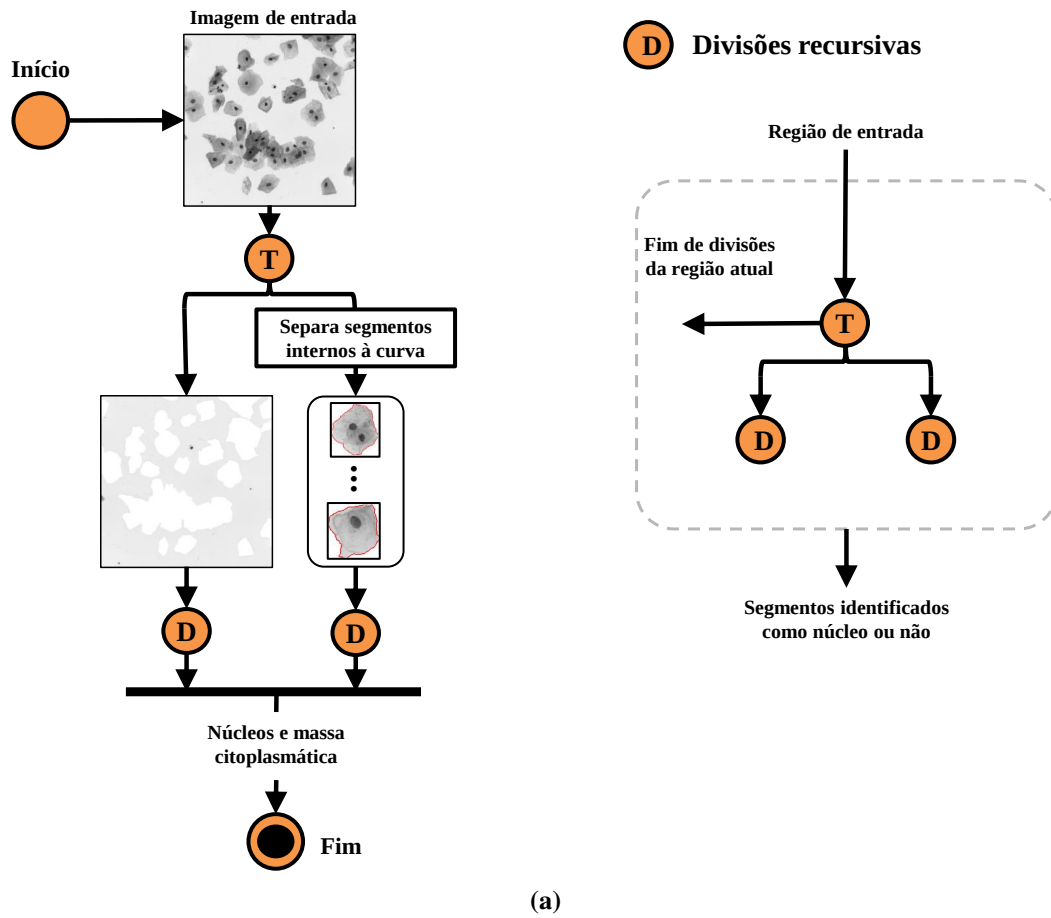


Figura 16: A abordagem hierárquica proposta: (a) procedimento principal baseado em uma segmentação recursiva das regiões obtidas a partir da primeira divisão; e (b) os dois testes usados como critério de divisão e identificação dos núcleos.

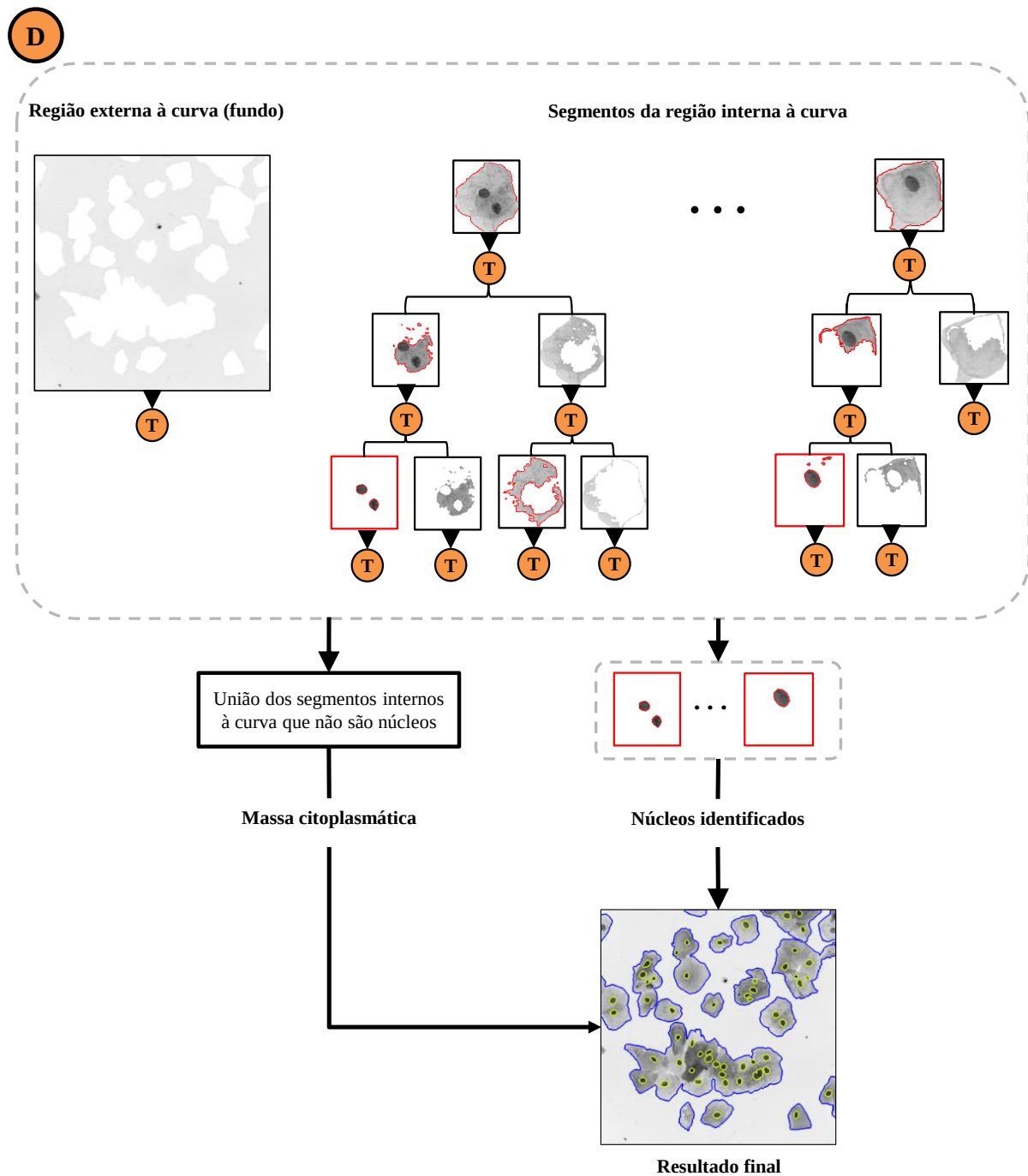


Figura 17: Exemplo de divisões recursivas das regiões obtidas a partir da primeira divisão da imagem da Figura 16, em que as regiões em branco não são consideradas nas divisões.

4.3 Conclusão do capítulo

Neste capítulo foi proposto um algoritmo multiescala para estimar informações de grupos de uma imagem, a fim de automatizar a inicialização do método *level set*. Em seguida, foi apresentada a principal contribuição desta dissertação, que consiste de uma abordagem hierárquica baseada no algoritmo rápido de *level set*, proposto no Capítulo 3, para segmentação de imagens com células cervicais. A abordagem hierárquica proposta não é adequada para detectar os citoplasmas individualmente em aglomerados de células cervicais sobrepostas. No entanto, a região de toda a massa citoplasmática e as regiões individuais dos núcleos, tanto em células isoladas como em células sobrepostas, são segmentadas de forma efetiva pela abordagem proposta.

O próximo capítulo apresenta os resultados experimentais desta dissertação, além de uma análise comparativa entre a abordagem hierárquica proposta e outros métodos de segmentação de células cervicais existentes na literatura. Os experimentos são realizados em imagens de dois bancos de dados públicos com células cervicais, e para avaliar os resultados são utilizadas medidas que indicam a detecção do objeto segmentado e a acurácia da segmentação.

EXPERIMENTOS E RESULTADOS

Este capítulo apresenta os resultados de uma avaliação comparativa do algoritmo *level set* hierárquico, proposto no Capítulo 4 e aqui nomeado por LSH, com outros três métodos de segmentação de células cervicais apresentados na literatura (LU; CARNEIRO; BRADLEY, 2015; CHANKONG; THEERA-UMPON; AUEPHANWIRIYAKUL, 2014; LI *et al.*, 2012). Os experimentos foram realizados em imagens digitais do exame de Papanicolaou contendo uma única célula cervical e em imagens com várias células cervicais de dois bancos de dados públicos. Para avaliar a segmentação das regiões são utilizadas medidas que indicam a detecção do objeto segmentado e a acurácia da segmentação. Assim, primeiramente são apresentadas as medidas de avaliação utilizadas e em seguida os resultados experimentais obtidos em cada banco de dados de imagens. Todos os experimentos foram realizados em um processador Intel Core i5 com 3,2 GHz e 8 Gb RAM, usando a linguagem MATLAB.

5.1 Medidas de avaliação

5.1.1 Medidas baseadas em objeto

A fim de fornecer uma análise quantitativa da detecção dos núcleos, assim como em Lu, Carneiro e Bradley (2015), foi utilizado um critério baseado em objeto proposto por Gençtav, Aksoy e Önder (2012). Segundo esse critério, um núcleo segmentado é identificado como detectado corretamente se pelo menos τ por cento deste objeto sobrepõe o núcleo da verdade terrestre e vice-versa, isto é, $\# \{N_{RS} \cap N_{REF}\} / \# \{N_{RS}\} > \tau$ e $\# \{N_{RS} \cap N_{REF}\} / \# \{N_{REF}\} > \tau$, em que N_{RS} indica o objeto do resultado da segmentação, N_{REF} indica o objeto da imagem de referência ou verdade terrestre e $\# \{\cdot\}$ denota o número de pixels de uma região.

As medidas *precisão* (PRE_O) e *revocação* (REV_O) baseadas em objeto também foram computadas, respectivamente, como

$$PRE_O = \frac{\text{Número de objetos detectados corretamente}}{\text{Número de todos objetos segmentados}}, \quad (5.1)$$

$$REV_O = \frac{\text{Número de objetos detectados corretamente}}{\text{Número de todos objetos na verdade terrestre}}. \quad (5.2)$$

5.1.2 Medidas baseadas em pixel

Adicionalmente, para cada núcleo identificado como detectado corretamente, foram calculadas as medidas *precisão* (PRE_P) e *revocação* (REV_P) baseadas em pixel (GENÇTAV; AKSOY; ÖNDER, 2012):

$$PRE_P = \frac{VP}{VP + FP}; \quad (5.3)$$

$$REV_P = \frac{VP}{VP + FN}, \quad (5.4)$$

em que VP (verdadeiro-positivo) é o número de pixels segmentados corretamente, FP (falso-positivo) é o número de pixels segmentados que não estão na verdade terrestre e FN (falso-negativo) é o número de pixels na verdade terrestre que não estão no resultado da segmentação. A Figura 18 ilustra as regiões onde VP , FP e FN são computadas.

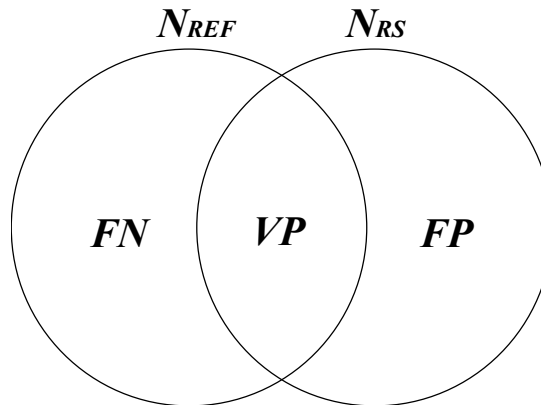


Figura 18: Regiões onde VP , FP e FN são computadas.

Neste trabalho, também foi utilizada a medida baseada em pixel *Zijdenbos similarity index* (ZSI) (ZIJDENBOS *et al.*, 1994), também conhecida como coeficiente de similaridade Dice, que é definida como

$$ZSI = 2 \frac{\#\{N_{REF} \cap N_{RS}\}}{\#\{N_{REF}\} + \#\{N_{RS}\}} = \frac{2VP}{2VP + FP + FN}, \quad (5.5)$$

em que $\#\{\cdot\}$ denota o número de pixels de uma região.

Diferente das outras medidas baseadas em pixel, a medida ZSI inclui tanto FP quanto FN e portanto, esta medida foi utilizada como um indicador da acurácia do resultado de segmentação. De acordo com Zijdenbos *et al.* (1994), um valor de ZSI maior que 0,7 indica uma concordância adequada entre as regiões do resultado de segmentação e da verdade terrestre.

5.2 Experimentos no banco de dados com imagens EDF

O banco de dados de imagens introduzido em Lu, Carneiro e Bradley (2015) contém 16 imagens, as quais foram obtidas de diferentes campos de visão (*Fields of View*, FOV) de quatro amostras de citologia cervical. Estas amostras foram preparadas usando a tecnologia AutoCyte PREP (BISHOP *et al.*, 1998), que gera amostras com aproximadamente 20 μm de espessura.

As imagens possuem uma resolução de aproximadamente 0,185 μm por pixel e foram capturadas por uma câmera digital de quatro mega-pixels em um microscópio Olympus BX40 com uma objetiva 40x. Esta objetiva tem uma abertura numérica de 0,75, que permite uma profundidade de campo de aproximadamente 1 μm . Com isso, para cada FOV foi obtida uma pilha com 20 imagens, em diferentes planos focais, sendo que a separação da profundidade focal entre cada imagem é de 1 μm . Em seguida, foi utilizado um algoritmo baseado na transformada *wavelet* (BRADLEY; BAMFORD, 2004) para converter as 20 imagens de uma pilha em uma única imagem EDF (*Extended Depth of Field*), em que todas as células estão em foco. A vantagem disso é que os algoritmos computacionais de segmentação podem ser aplicados em uma única imagem ao invés de um pilha de imagens. As Figuras 19a e 19b ilustram duas imagens de uma mesma pilha em que várias células cervicais estão fora de foco e a Figura 19c mostra a respectiva imagem EDF.

Além das 16 imagens EDF, em que existe um total de 645 células cervicais, este banco de dados também fornece as verdades terrestres dos núcleos para todas as imagens, as quais foram segmentadas manualmente por especialistas. A Figura 19d mostra a verdade terrestre dos núcleos da imagem EDF da Figura 19c. No entanto, este banco de dados não disponibiliza as verdades terrestres das massas citoplasmáticas e, portanto, foi realizada uma avaliação quantitativa apenas da segmentação dos núcleos.

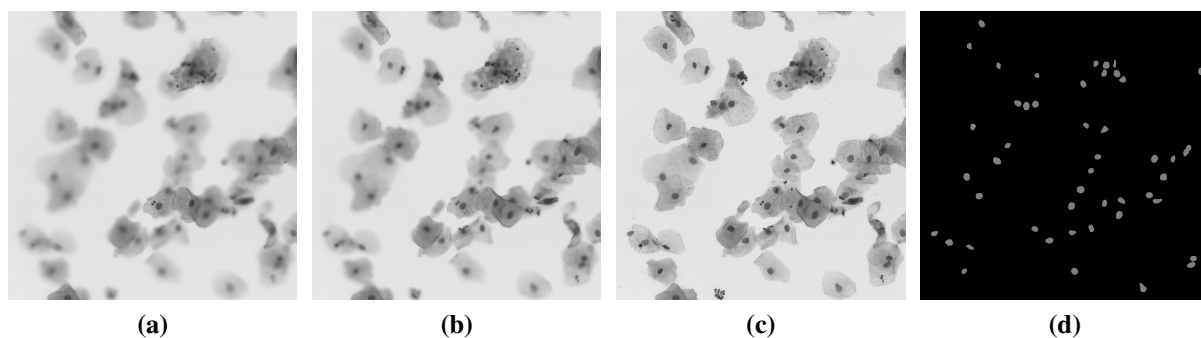


Figura 19: (a)-(b) Imagens, de uma mesma pilha, com várias células cervicais fora de foco; (c) imagem EDF em que todas as células cervicais estão em foco; e (d) a verdade terrestre dos núcleos da imagem EDF.

Todas as imagens EDF possuem dimensões de 1024 x 1024 pixels e estão em escala de cinza. A fim de melhorar o contraste, os valores dos pixels de cada imagem foram linearmente normalizados entre 0 e 255, antes de aplicar o método hierárquico proposto. Para identificar os núcleos neste banco de dados de imagens, o método proposto utilizou os seguintes limiares: $100 < A_n < 1200$; $C_n > 0.5$; $\mu_n < 175$; e $D_n > 35$, em que estes valores foram obtidos a partir das verdades terrestres das imagens e empiricamente ajustados. Após o processo de segmentação, os segmentos identificados como núcleo que tocam a borda da imagem foram eliminados, visto que os especialistas que produziram as verdades terrestres não consideraram esses núcleos.

Os resultados de segmentação obtidos pelo método proposto foram comparados com os resultados alcançados pelo algoritmo introduzido por Lu, Carneiro e Bradley (2015), o qual foi projetado para segmentar as 16 imagens EDF deste banco de dados. Além disso, é importante mencionar que nos experimentos foi utilizado o código¹, em linguagem Matlab, disponibilizado publicamente pelos referidos autores.

Como mencionado no Capítulo 2, o algoritmo proposto por Lu, Carneiro e Bradley (2015) segmenta toda a massa citoplasmática e em seguida segmenta os núcleos. Assim, inicialmente uma imagem com superpixels é gerada com o uso do algoritmo *quick shift* (VEDALDI; SOATTO, 2008) e as bordas desta imagem são extraídas. Para todos os segmentos de bordas conectados são obtidos os respectivos *convex hulls* que servem como uma segmentação inicial da massa citoplasmática. Para obter os contornos finais, os autores realizam uma classificação binária com base na maximização de verossimilhança em que as classes (ou regiões) são a massa citoplasmática e o fundo da imagem.

Em uma etapa posterior, o método *Maximally Stable Extremal Regions* (MSER) (MATAS *et al.*, 2004) é utilizado para detectar componentes conectados estáveis, os quais representam

¹Código: https://github.com/luzhi/cellsegmentation_TIP2015.

segmentos candidatos a núcleos. Estes segmentos são refinados com a técnica *level set* (LI *et al.*, 2010) e os verdadeiros segmentos de núcleos são identificados com base em limiares das seguintes características: excentricidade, área, média dos valores dos pixels e a relação entre a área do segmento e a área da região da massa citoplasmática que o segmento está inserido. A Figura 20 apresenta os passos deste algoritmo de segmentação de células. Neste trabalho, este algoritmo é refenciado por MSER-LS, visto que os seus autores utilizaram a técnica MSER para segmentar os núcleos e a técnica *level set* para refinar os resultados.

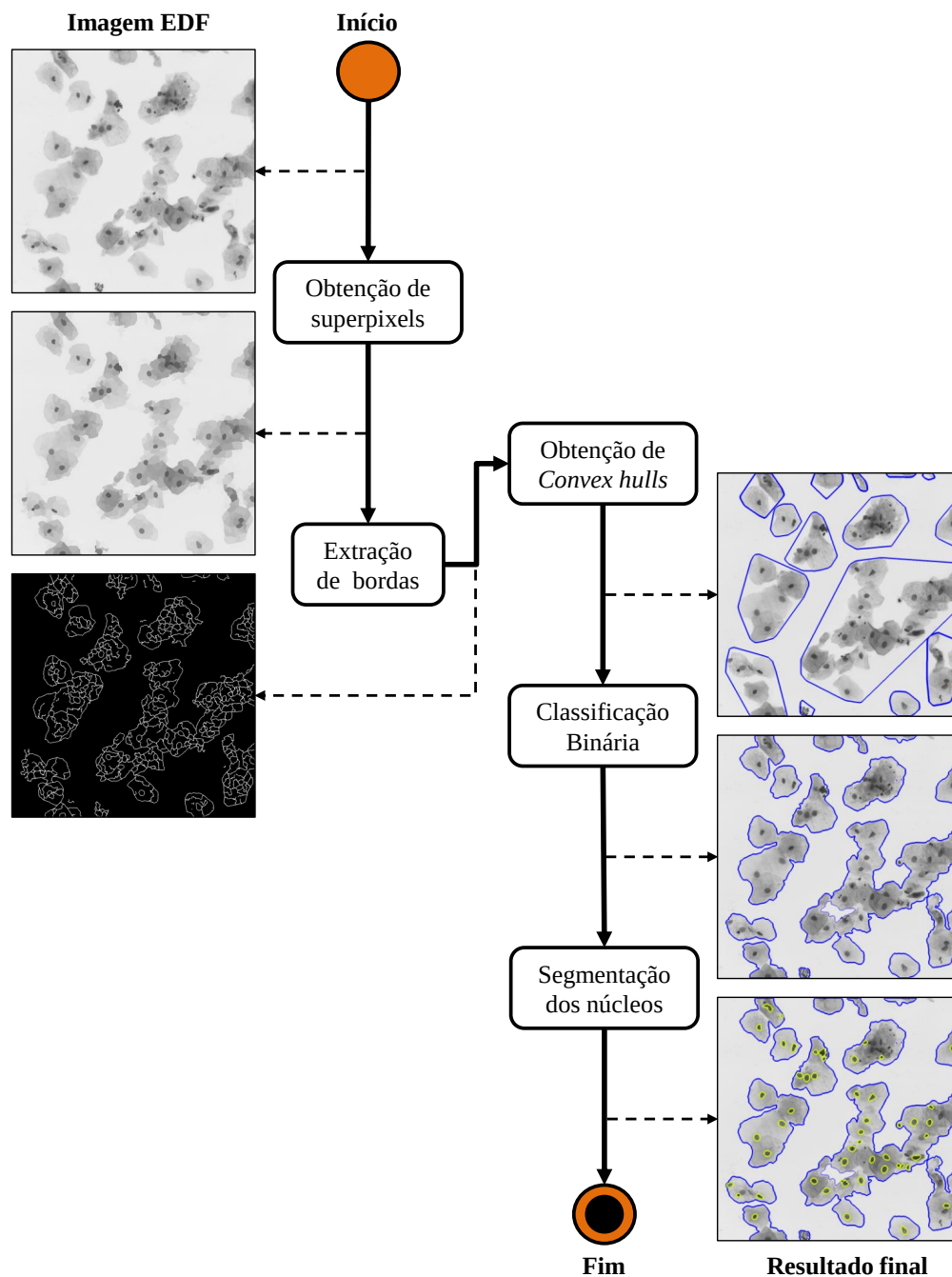


Figura 20: Passos do algoritmo de segmentação de células proposto por Lu, Carneiro e Bradley (2015), aqui refenciado por MSER-LS.

A Figura 21 mostra os resultados obtidos pelo método proposto e pelo método MSER-LS em termos de detecção de núcleo baseada em objeto. Na Figura 21a são apresentados os valores da medida REV_O e na Figura 21b são exibidos os valores da medida PRE_O , em que ambas as medidas foram calculadas para valores do limiar de sobreposição τ de 0,4 a 0,9.

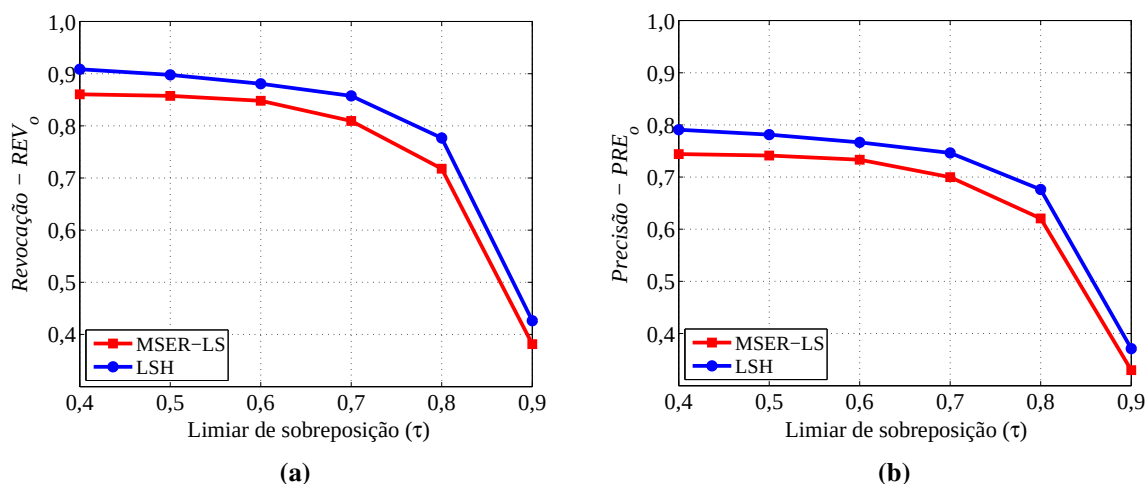


Figura 21: Avaliação baseada em objeto: (a) valores da medida *revocação* (REV_O); e (b) valores da medida *precisão* (PRE_O).

A medida REV_O pode ser entendida como a taxa de acertos dos núcleos segmentados e portanto, expressa em porcentagem o número de núcleos detectados corretamente, segundo o critério apresentado na Seção 5.1. Nota-se na Figura 21a que os valores da medida REV_O obtidos pelo método proposto são maiores que os valores alcançados pelo método MSER-LS, para todos os valores do limiar de sobreposição τ . Isto se deve ao fato que o método proposto mostrou-se mais efetivo em segmentar núcleos localizados em regiões da imagem com um baixo contraste entre o núcleo e seu citoplasma, principalmente em regiões escuras.

Diferente da medida REV_O , que considera apenas o número de núcleos detectados corretamente, a medida PRE_O também leva em conta o número de falsos núcleos que foram segmentados. Em relação à esta medida, o método proposto também apresentou um melhor desempenho para todos os valores de τ , como pode ser observado na Figura 21b. A razão para isto é que, além de ter obtido um número maior de núcleos detectados corretamente, o método proposto segmentou menos falsos núcleos. A Figura 22 ilustra resultados de segmentação de imagens utilizadas nos experimentos.

A Tabela 2 apresenta os valores das médias μ e dos desvios padrões σ das medidas baseadas em pixel PRE_P , REV_P e ZSI , as quais foram calculadas apenas dos resultados de segmentação dos núcleos que foram identificados como detectados corretamente. Os valores em **negrito** indicam os melhores resultados em cada valor de τ .

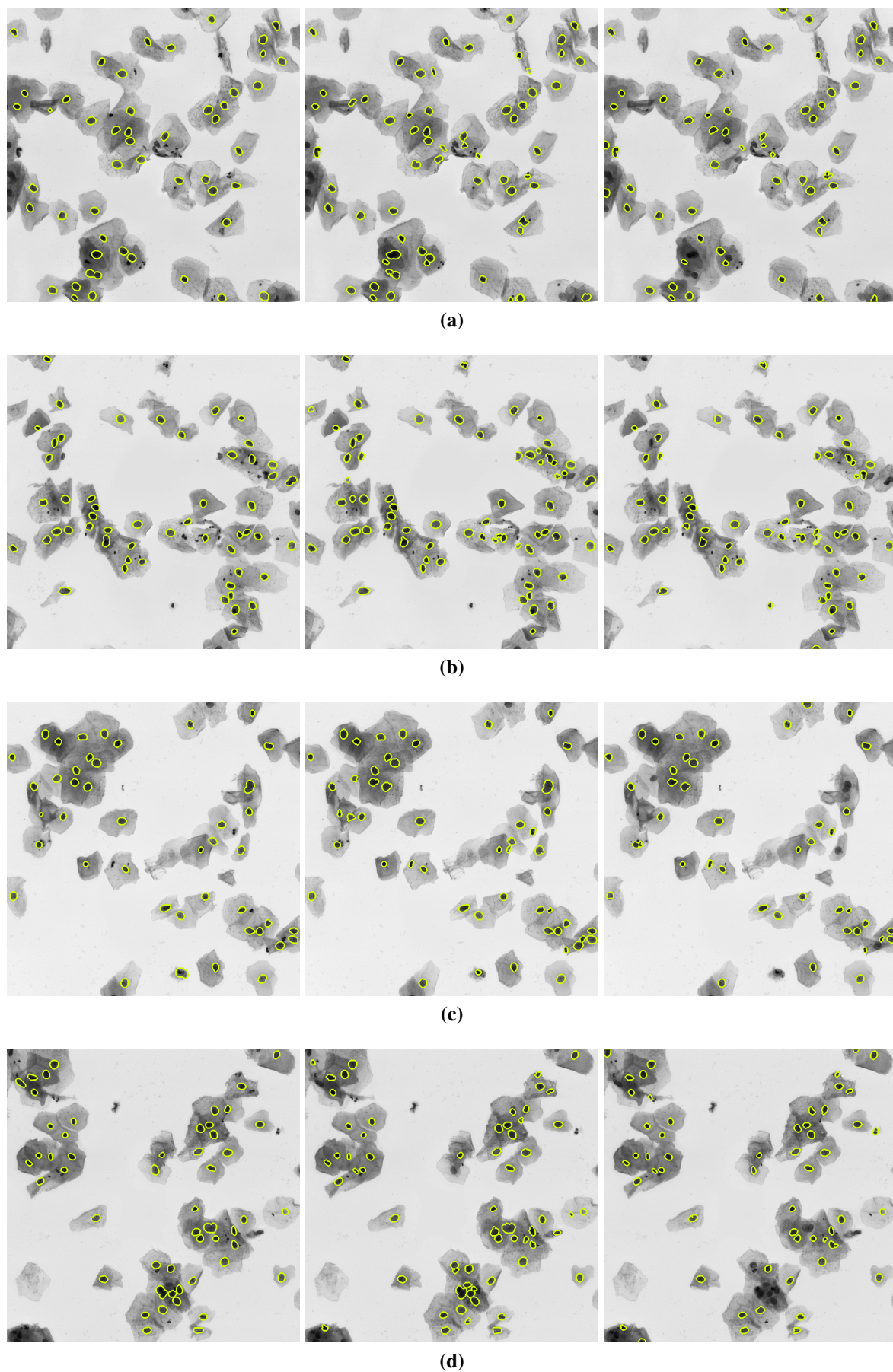


Figura 22: (a)-(d) Resultado final da segmentação de imagens EDF, da esquerda para a direita: a verdade terrestre; resultados do algoritmo proposto; e resultados do algoritmo MSER-LS, respectivamente.

Tabela 2: Comparação da segmentação dos núcleos nas 16 imagens EDF.

Limiar (τ)	Algoritmo	$\mu_{PRE_P} \pm \sigma_{PRE_P}$	$\mu_{REV_P} \pm \sigma_{REV_P}$	$\mu_{ZSI} \pm \sigma_{ZSI}$
0,4	LSH	$0,89 \pm 0,09$	$0,96 \pm 0,07$	$0,92 \pm 0,06$
	MSER-LS	$0,96 \pm 0,06$	$0,89 \pm 0,09$	$0,92 \pm 0,06$
0,5	LSH	$0,90 \pm 0,08$	$0,96 \pm 0,06$	$0,92 \pm 0,05$
	MSER-LS	$0,96 \pm 0,06$	$0,89 \pm 0,09$	$0,92 \pm 0,05$
0,6	LSH	$0,90 \pm 0,08$	$0,96 \pm 0,06$	$0,93 \pm 0,04$
	MSER-LS	$0,96 \pm 0,06$	$0,90 \pm 0,08$	$0,92 \pm 0,05$
0,7	LSH	$0,91 \pm 0,07$	$0,96 \pm 0,05$	$0,93 \pm 0,03$
	MSER-LS	$0,97 \pm 0,05$	$0,90 \pm 0,07$	$0,93 \pm 0,04$
0,8	LSH	$0,92 \pm 0,05$	$0,97 \pm 0,04$	$0,94 \pm 0,02$
	MSER-LS	$0,97 \pm 0,04$	$0,92 \pm 0,05$	$0,94 \pm 0,03$
0,9	LSH	$0,95 \pm 0,03$	$0,97 \pm 0,03$	$0,96 \pm 0,01$
	MSER-LS	$0,97 \pm 0,02$	$0,95 \pm 0,03$	$0,96 \pm 0,01$

Devido ao maior número de FP obtido pelo método proposto, os valores da medida PRE_P do método MSER-LS foram todos superiores, como pode ser observado na Tabela 2. Por outro lado, os valores da medida REV_P do método proposto foram todos superiores e isto foi devido ao maior número de FN que o método MSER-LS apresentou. Em outras palavras, tendo como base os contornos da verdade terrestre, os contornos dos resultados de segmentação do método proposto são mais externos enquanto que os do método MSER-LS são mais internos.

As medidas PRE_P e REV_P avaliam a segmentação considerando o número de FP e FN , respectivamente. Já a medida ZSI leva em conta tanto FP quanto FN , o que possibilita avaliar a acurácia da segmentação. Com exceção dos resultados para $\tau = 0,6$, em que o método proposto foi superior, para todos os outros valores de τ os métodos apresentaram resultados da medida ZSI similares, como a Tabela 2 mostra. Apesar da similaridade na acurácia dos resultados de segmentação dos métodos, vale mencionar que o método proposto foi superior em termos de detecção de núcleos baseada em objeto. Além disso, o tempo computacional médio do método proposto foi de 31,62 s, enquanto o do método MSER-LS foi de 36,56 s.

5.3 Experimentos no banco de dados Herlev

O banco de dados Herlev (JANTZEN; DOUNIAS, 2006) contém 917 imagens e foi coletado pelo Departamento de Patologia do Hospital da Universidade de Herlev, Denmark. A partir de amostras de citologia cervical (exame de Papanicolaou) especialistas capturaram imagens com apenas uma célula cervical utilizando uma câmera digital e um microscópio com uma resolução de $0,201 \mu m$ por pixel. Especialistas classificaram cada célula em 7 classes, a saber: 1-escamosa superficial, 2-escamosa intermediária, 3-colunar, 4-displasia leve,

5-displasia moderada, 6-displasia severa e 7-carcinoma *in situ*. As imagens possuem diferentes tamanhos, sendo que o tamanho médio das imagens é de 140 x 156 pixels. Este banco de dados fornece as verdades terrestres do núcleo e do citoplasma para todas as imagens, as quais foram segmentadas por especialistas. A Figura 23 apresenta imagens das 7 classes com suas respectivas verdades terrestres.

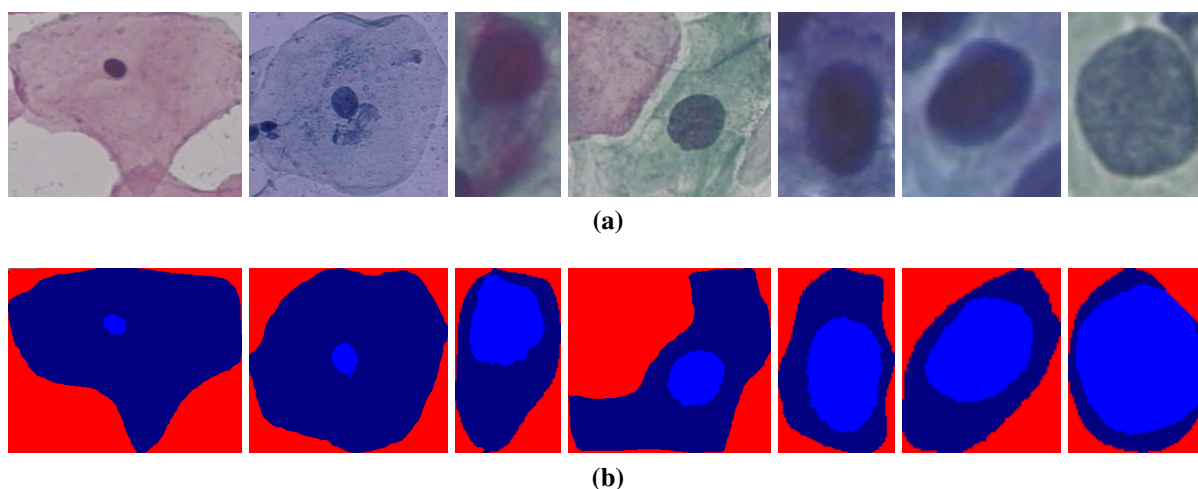


Figura 23: (a) Imagens do banco de dados Herlev, da esquerda para a direita: 1-escamosa superficial, 2-escamosa intermediária, 3-colunar, 4-displasia leve, 5-displasia moderada, 6-displasia severa e 7-carcinoma *in situ*, respectivamente; e (b) as verdades terrestres das imagens.

Visto que no exame de Papanicolaou as células se dispõem próximas umas às outras, em imagens deste banco de dados é possível encontrar regiões de núcleos e citoplasmas de células vizinhas à célula considerada, como mostra a Figura 23a. Em relação ao citoplasma, fragmentos desta região de células vizinhas podem ou não sobrepor a célula considerada, sendo que na maioria das imagens estes fragmentos apresentam-se de forma sobreposta. Além do mais, muitas imagens deste banco de dados não apresentam o citoplasma completo, principalmente imagens das classes displasia moderada, displasia severa e carcinoma *in situ*. Apesar dos possíveis fragmentos de células vizinhas, este banco de dados disponibiliza somente as verdades terrestres do núcleo e do citoplasma da célula mais centralizada na imagem, como a Figura 23b ilustra.

Com isso, para uma avaliação quantitativa da segmentação do núcleo, como em Li *et al.* (2012), foi adotado o segmento de núcleo do resultado da segmentação que sobrepõe o núcleo da verdade terrestre. Diferente da avaliação da segmentação do núcleo em que todas as imagens foram utilizadas, na avaliação da segmentação do citoplasma foram utilizadas apenas 65 imagens as quais apresentam o citoplasma completo e sem sobreposição, como em Li *et al.* (2012).

As imagens do banco de dados Herlev estão no sistema de cores RGB, isto é, cada

pixel da imagem é representada por um vetor composto por três componentes. Cada um destes componentes é um valor entre 0 e 255 o qual indica um tom das cores vermelha (R - *red*), verde (G - *green*) e azul (B - *blue*). Assim, antes de aplicar o método hierárquico de segmentação proposto, essas imagens foram convertidas para escala de cinza e, a fim de melhorar o contraste, as imagens foram linearmente normalizadas entre 0 e 255. Durante o processo de segmentação hierárquica, o método proposto identificou os núcleos com base nos seguintes limiares: $355 < A_n < 10800$; $C_n > 0.2$; $\mu_n < 125$; e $D_n > 35$, os quais foram obtidos a partir das verdades terrestres das imagens e empiricamente ajustados.

Os resultados de segmentação alcançados pelo algoritmo proposto foram comparados com os resultados obtidos pelos algoritmos introduzidos por Chankong, Theera-Umpon e Auephanwiriyaikul (2014) e Li *et al.* (2012)², os quais foram projetados para segmentar as imagens do banco de dados Herlev. Vale mencionar que não foi realizada uma comparação com o algoritmo apresentado em Lu, Carneiro e Bradley (2015), utilizado na avaliação comparativa da Seção 5.2, porque este algoritmo foi projetado para segmentar as imagens EDF e portanto não apresentou resultados adequados no banco de dados Herlev.

O algoritmo de segmentação de células introduzido por Chankong, Theera-Umpon e Auephanwiriyaikul (2014) é baseado na técnica *fuzzy C-means* (FCM) (BEZDEK, 1981). Aqui, este método de segmentação de células é mencionado por M-FCM e seus passos são apresentados na Figura 24. Como mencionado no Capítulo 2, primeiramente os autores aplicam o filtro da mediana na imagem em escala de cinza e depois segmentam a imagem filtrada em 7 grupos por meio da técnica FCM. Em seguida, estes grupos são classificados em 3 grupos finais, isto é, em núcleo, citoplasma e fundo da imagem, em que esta classificação é realizada com base em limiares obtidos da média dos valores dos centróides dos 7 grupos.

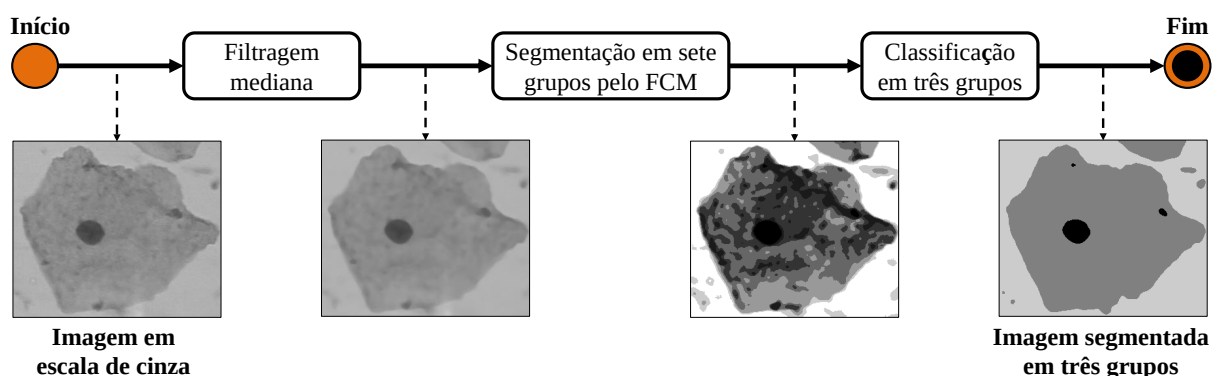


Figura 24: Passos do algoritmo de segmentação de células introduzido em Chankong, Theera-Umpon e Auephanwiriyaikul (2014), aqui mencionado por M-FCM.

²Código: <http://code.google.com/p/rgvf-single/>.

Como descrito no Capítulo 2, o método proposto por Li *et al.* (2012) é baseado na técnica de agrupamento k-médias (JAIN, 2010) e na técnica de contorno ativo *snake* (XU; PRINCE, 1998), que requer para sua inicialização o contorno inicial do objeto de interesse e o mapa de bordas da imagem. Este método de segmentação de células é nomeado *Radiating Gradient Vector Flow* (RGVF) e seus passos são apresentados na Figura 25. Inicialmente, os ruídos da imagem em escala de cinza são eliminados aplicando o filtro *non-local means* e em seguida a imagem filtrada é segmentada em 3 regiões com o uso do método k-médias. Por fim, os contornos extraídos desse resultado de segmentação inicial e o mapa de bordas, computado de forma radiante a partir do ponto central da região do núcleo, são utilizados pelo algoritmo *snake* para refinar os resultados de segmentação.

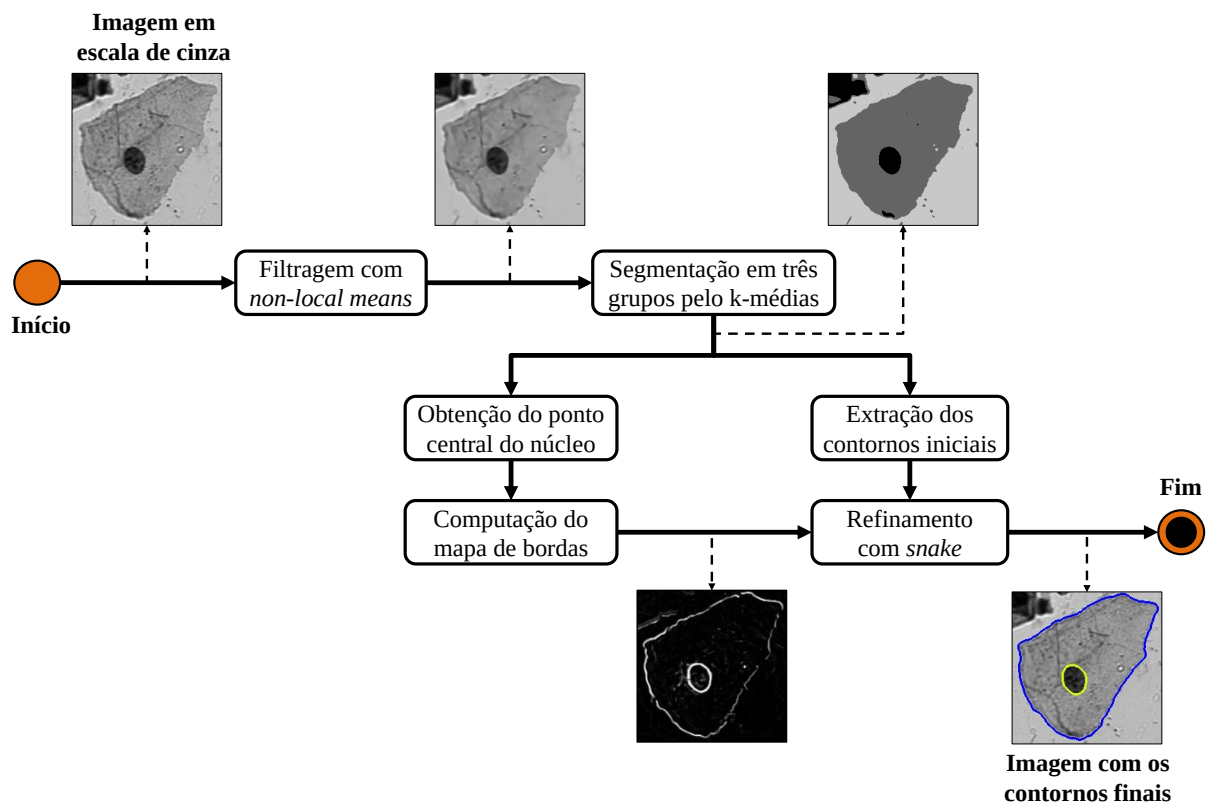


Figura 25: Passos do algoritmo de segmentação de células proposto por Li *et al.* (2012), aqui nomeado RGVF.

Núcleo, citoplasma e fundo da imagem são as três principais regiões consideradas nas imagens do banco de dados Herlev. Porém, a presença de fragmentos de células, coloração inconsistente, baixo contraste e alterações nas células causadas pelo HPV podem gerar mais grupos nas imagens. Assim, para alcançar resultados satisfatórios, algumas imagens precisam ser segmentadas em mais do que três grupos, ou seja, o conhecimento do número de grupos da imagem é necessário.

Desde que o algoritmo M-FCM divide todas as imagens em três grupos, ou seja, considera

que todas as imagens possuem três grupos, este algoritmo de segmentação de células falha quando as imagens apresentam mais de três grupos ou quando os três grupos desejados não estão bem definidos. Por exemplo, algumas partes do citoplasma com valores de intensidade dos pixels mais alto podem ser agrupadas como região do fundo da imagem. Além do mais, partes do citoplasma com valores de intensidade dos pixels mais baixo podem ser agrupadas como região do núcleo. O mesmo ocorre com o algoritmo RGVF que divide a imagem em 3 grupos a fim de obter os contornos iniciais para o algoritmo *snake*. Um problema na utilização de *snakes* é a necessidade de contornos iniciais próximos dos contornos reais. Assim, quando o resultado alcançado pelo método k-médias não gera contornos iniciais adequados, consequentemente os contornos finais não delimitam de forma precisa as regiões do núcleo e do citoplasma. A Figura 26 mostra resultados de segmentação de imagens que apresentam mais de três grupos.

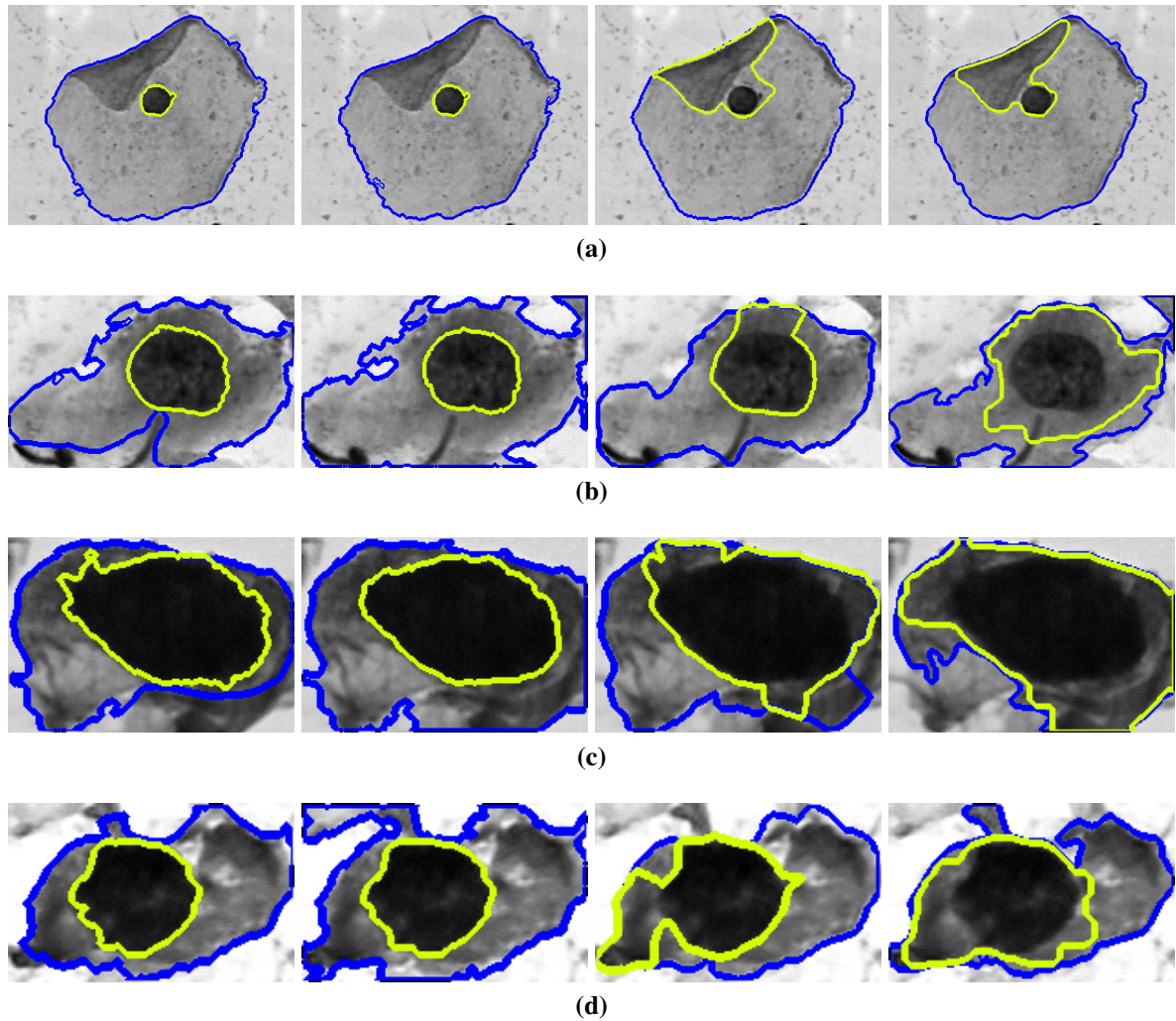


Figura 26: (a)-(d) Resultado da segmentação de imagens com mais de três grupos, da esquerda para a direita: a verdade terrestre; resultados do algoritmo proposto; resultados do RGVF; e resultados do M-FCM, respectivamente.

Pela Figura 26 pode-se notar que nos resultados dos algoritmos RGVF e M-FCM partes do citoplasma foram agrupadas como núcleo. Isto porque a região do citoplasma destas imagens apresenta uma grande variação em seus níveis de cinza e portanto essa região apresenta mais de um grupo. Com isso, pode-se afirmar que estas imagens devem ser segmentadas em mais de três grupos para alcançar um bom resultado de segmentação da região do núcleo. A abordagem proposta não requer informação inicial sobre o número de grupos da imagem e assim foi capaz de segmentar o núcleo adequadamente.

A fim de avaliar quantitativamente a detecção dos núcleos neste banco de dados de imagens, como em Lu, Carneiro e Bradley (2015) e Gençtav, Aksoy e Önder (2012), foi utilizado um limiar de sobreposição $\tau = 0,6$ na avaliação baseada em objeto. Assim, segundo o critério apresentado na Seção 5.1, o método proposto obteve um número maior de núcleos detectados corretamente para todas as classes, como a Tabela 3 sumariza.

Tabela 3: Número de núcleos detectados corretamente no banco de dados Herlev.

Classe	Nome da classe	Quantidade	Algoritmo		
			LSH	RGVF	M-FCM
1	Escamosa superficial	74	74	57	50
2	Escamosa intermediária	70	69	53	60
3	Colunar	98	82	81	55
4	Displasia leve	182	168	156	137
5	Displasia moderada	146	137	135	108
6	Displasia severa	197	183	182	153
7	Carcinoma <i>in situ</i>	150	136	134	133

A Tabela 4 apresenta as medidas de avaliação baseadas em pixel PRE_P , REV_P e ZSI , em que os valores em negrito destacam os melhores resultados de cada classe. Em conformidade com os resultados, o método hierárquico proposto obteve valores médios de PRE_P maiores, apesar dos resultados da medida REV_P dos algoritmos RGVF e M-FCM terem sido superiores. Estes resultados foram devidos ao maior número de FP dos métodos RGVF e M-FCM e em razão do método proposto apresentar um maior número de FN . Porém, o método hierárquico proposto foi superior na medida ZSI , a qual indica a acurácia dos resultados da segmentação. Além disso, o método proposto foi o mais rápido com um tempo médio de 0,99 s por imagem, enquanto que os tempos médios para os algoritmos RGVF e M-FCM foram 11,41 s e 1,62 s, respectivamente.

Tabela 4: Comparação da segmentação dos núcleos no banco de dados Herlev. As classes são numeradas como na Tabela 3.

Classe		Precisão (PRE_P)			Revocação (REV_P)			ZSI		
		LSH	RGVF	M-FCM	LSH	RGVF	M-FCM	LSH	RGVF	M-FCM
1	μ	0,93	0,87	0,81	0,96	0,98	0,99	0,93	0,92	0,88
	σ	0,10	0,09	0,12	0,07	0,02	0,02	0,06	0,05	0,06
2	μ	0,93	0,88	0,89	0,98	0,99	0,98	0,95	0,93	0,93
	σ	0,09	0,06	0,11	0,04	0,01	0,03	0,05	0,03	0,06
3	μ	0,92	0,83	0,83	0,93	0,98	0,98	0,92	0,90	0,89
	σ	0,11	0,09	0,13	0,10	0,02	0,04	0,07	0,06	0,07
4	μ	0,95	0,90	0,93	0,95	0,99	0,94	0,95	0,94	0,93
	σ	0,08	0,08	0,10	0,06	0,04	0,09	0,05	0,05	0,06
5	μ	0,95	0,89	0,89	0,93	0,97	0,95	0,94	0,93	0,91
	σ	0,08	0,09	0,12	0,08	0,06	0,07	0,06	0,06	0,07
6	μ	0,96	0,91	0,90	0,93	0,96	0,96	0,94	0,93	0,92
	σ	0,07	0,08	0,11	0,08	0,06	0,06	0,05	0,05	0,06
7	μ	0,94	0,91	0,87	0,92	0,94	0,94	0,92	0,92	0,90
	σ	0,09	0,08	0,11	0,09	0,08	0,09	0,06	0,06	0,07
Média	μ	0,94	0,88	0,87	0,94	0,97	0,96	0,94	0,92	0,91
	σ	0,09	0,08	0,11	0,07	0,04	0,06	0,06	0,05	0,06

Na avaliação da segmentação dos citoplasmas todos os métodos foram capazes de segmentar de forma adequada essa região e, assim, foi realizada apenas uma avaliação baseada em pixel. Como na avaliação da segmentação dos núcleos, as medidas baseadas em pixel PRE_P , REV_P e ZSI também foram utilizadas para avaliar quantitativamente a segmentação dos citoplasmas. A Tabela 5 sumariza estas medidas de avaliação obtidas pelo método proposto e pelos métodos RGVF e M-FCM. Como pode ser visto, os métodos apresentaram resultados de PRE_P similares. Porém, o método proposto superou os outros métodos em relação às medidas REV_P e ZSI . A Figura 27 mostra resultados de segmentação de imagens que certificam que os algoritmos RGVF e M-FCM foram mais sensíveis a baixo contraste.

Tabela 5: Comparação da segmentação do citoplasma no banco de dados Herlev.

Algoritmo	$\mu_{PRE_P} \pm \sigma_{PRE_P}$	$\mu_{REV_P} \pm \sigma_{REV_P}$	$\mu_{ZSI} \pm \sigma_{ZSI}$
LSH	0,97 $\pm$ 0,03	0,99 $\pm$ 0,01	0,98 $\pm$ 0,02
RGVF	0,97 $\pm$ 0,01	0,96 $\pm$ 0,06	0,97 $\pm$ 0,03
M-FCM	0,97 $\pm$ 0,07	0,93 $\pm$ 0,15	0,94 $\pm$ 0,13

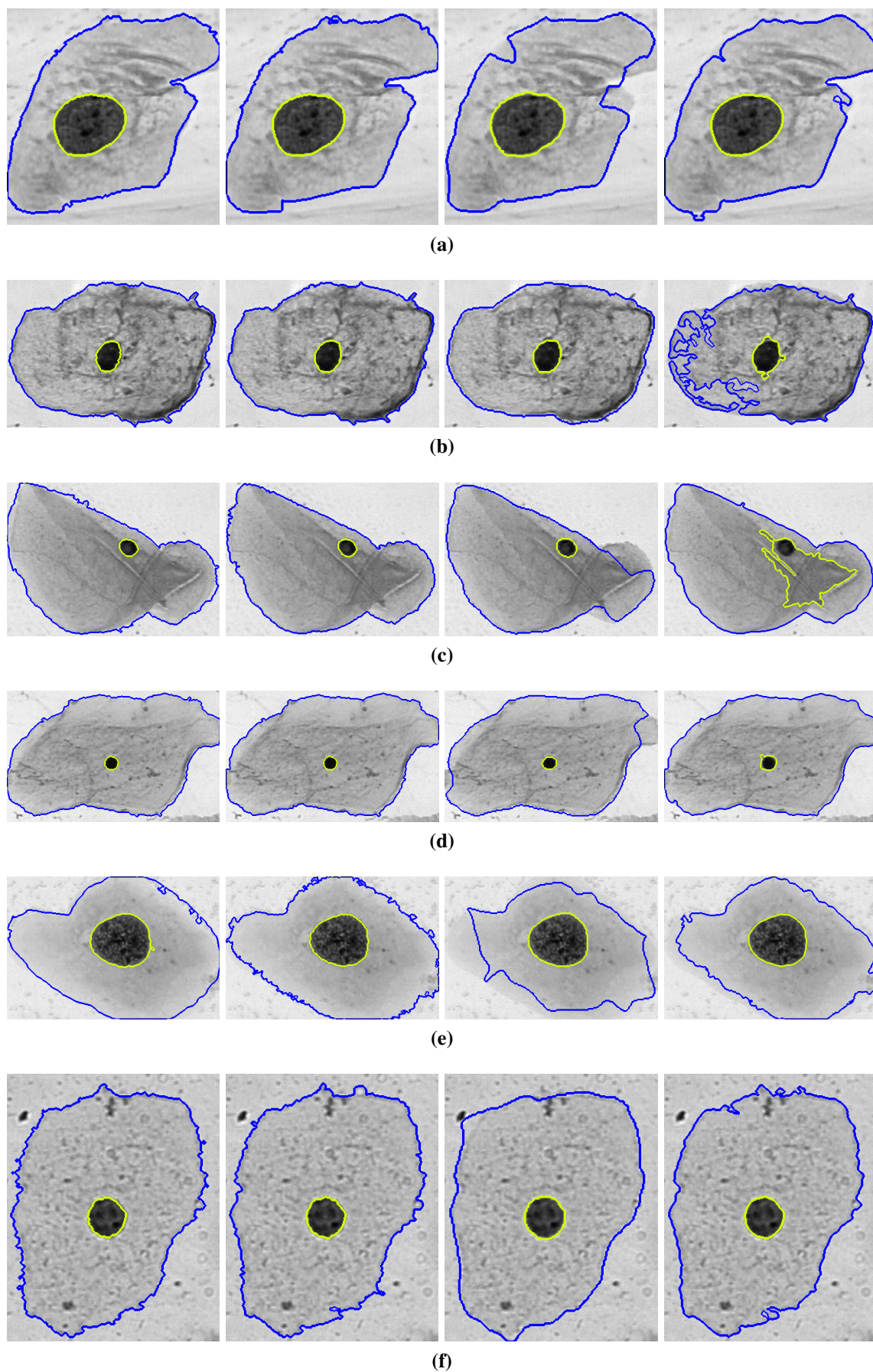


Figura 27: (a)-(f) Resultado final da segmentação de imagens do banco de dados Herlev, da esquerda para a direita: a verdade terrestre; resultados do algoritmo proposto; resultados do RGVF; e resultados do M-FCM, respectivamente.

5.4 Conclusão do capítulo

Este capítulo apresentou os experimentos realizados em dois bancos de dados públicos contendo imagens com várias células cervicais e imagens com uma única célula cervical. Os resultados obtidos pelo algoritmo *level set* hierárquico proposto foram comparados com os resultados de outros três métodos de segmentação de células cervicais. Para avaliar quantitativamente os resultados foram utilizadas medidas baseadas em objeto e baseadas em pixel, que descrevem a detecção e a acurácia das regiões segmentadas, respectivamente. Essas medidas indicaram que o algoritmo hierárquico proposto mostrou-se efetivo para segmentar os núcleos de imagens dos dois bancos de dados e alcançou resultados superiores ou similares aos dos outros métodos. Na avaliação dos citoplasmas, o algoritmo proposto apresentou um melhor desempenho, principalmente em imagens com baixo contraste.

CONCLUSÃO E TRABALHOS FUTUROS

Este capítulo tem como objetivo apresentar as conclusões desta dissertação, obtidas a partir da consideração dos objetivos, dos aspectos metodológicos, e da análise e discussão dos resultados obtidos. Além disso, são apresentadas as perspectivas de trabalhos.

6.1 Conclusões

Em imagens de citologia cervical, as três principais regiões encontradas são núcleo, citoplasma e fundo da imagem. Além do mais, fatores como sobreposição de células, baixo contraste e células inflamadas podem gerar mais de três grupos nas imagens. Assim, processar imagens de citologia cervical requer algoritmos de segmentação multi-região.

Técnicas de *level set*, devido a sua eficácia e versatilidade, são amplamente utilizadas em problemas de segmentação de imagens. Porém, a proposta original fornece resultados de segmentação binária e além disso, tem um alto custo computacional. Assim, a primeira proposta apresentada nesta dissertação consiste em um algoritmo rápido de *level set* binário, baseado no filtro da mediana, que evita a solução tradicional por equações diferenciais e regularização por curvatura. Esta proposta serve como uma alternativa computacionalmente viável para a formulação original e para outras versões rápidas e paramétricas de *level set* encontradas na literatura.

O algoritmo *level set* proposto evolui segundo um modelo de verossimilhança em que foi considerado que as regiões da imagem seguem uma distribuição Normal. Quando os centróides iniciais, utilizados para computar as funções de verossimilhança dos grupos, são escolhidos de forma aleatória, o algoritmo não converge para o mesmo resultado, sendo que muitas vezes não alcança um resultado preciso. Portanto, a segunda proposta apresentada consiste em um algoritmo multiescala para detectar informações de grupos de uma imagem (ou região). Este algoritmo estima o número de grupos e seus centróides de acordo com os picos que são identificados no histograma da imagem. Assim, este algoritmo é utilizado para estimar os

centróides dos dois principais grupos da imagem, os quais servem como os centróides iniciais para o algoritmo rápido de *level set* proposto. Adicionalmente, a superfície inicial da função de *level set* é obtida por meio de uma limiarização, em que o valor médio entre os dois centróides é usado como o valor de limiar.

Vale destacar mais uma vez que, para processar imagens de citologia cervical é necessário algoritmos capazes de segmentar a imagem em múltiplas regiões. Com isso, foi proposta uma abordagem hierárquica baseada no algoritmo rápido de *level set* binário para segmentação de núcleos de células cervicais e sua massa citoplasmática. A abordagem proposta segmenta recursivamente uma região em duas novas regiões, começando da imagem completa. Com base no algoritmo detector de grupos, esta abordagem converge quando todas as regiões apresentam apenas um grupo. Uma vantagem da abordagem proposta é que nenhuma informação inicial sobre o número de grupos é necessário. Além disso, é importante ressaltar que durante o processo cada região é dividida em duas novas regiões de forma otimizada por meio do modelo de verossimilhança utilizado para a evolução do método *level set*.

Experimentos foram conduzidos em dois bancos de dados públicos, sendo que um deles contém imagens com várias células cervicais (banco de dados com imagens EDF) e o outro contém imagens com uma única célula cervical (banco de dados Herlev). Para uma avaliação quantitativa dos resultados foram utilizadas medidas baseadas em objeto e baseadas em pixel, que descrevem a detecção e a acurácia dos objetos segmentados, respectivamente.

O desempenho do algoritmo hierárquico proposto nas imagens EDF foi avaliado e comparado com um algoritmo introduzido na literatura, o qual foi desenvolvido para segmentar estas imagens. Na avaliação baseada em pixel, os métodos apresentaram resultados bastante similares. Porém, na avaliação baseada em objeto, o desempenho do método proposto foi superior. Isto foi devido ao fato que o método proposto segmentou menos falsos núcleos e mostrou-se mais efetivo em segmentar núcleos localizados em regiões da imagem que apresentam um baixo contraste entre o núcleo e o citoplasma, principalmente em regiões mais escuras da imagem. Além disso, o método proposto foi superior em termos de custo computacional.

Nos experimentos no banco de dados Herlev, o algoritmo hierárquico proposto foi avaliado e comparado com dois algoritmos existentes na literatura, ambos projetados para segmentar imagens com uma única célula cervical. O método proposto foi capaz de segmentar núcleos em imagens que os outros métodos não foram capazes, principalmente em imagens com mais de três grupos, e assim alcançou um número maior de núcleos detectados corretamente. Além do mais, em relação à acurácia da segmentação dos núcleos e ao tempo computacional médio, o

método hierárquico proposto superou os outros métodos.

Na avaliação da segmentação dos citoplasmas no banco Herlev todos os métodos foram capazes de segmentar esta região. Assim, foi avaliada apenas a acurácia dos resultados de segmentação, em que o método proposto apresentou um melhor desempenho, principalmente em imagens com baixo contraste.

Diante dos resultados pode-se concluir que o algoritmo hierárquico proposto mostrou-se robusto para segmentar os núcleos das imagens dos dois bancos de dados públicos. Isto é uma vantagem um vez que os métodos existentes na literatura normalmente segmentam os núcleos de apenas um desses bancos. Em relação ao citoplasma, embora o método proposto não seja capaz de segmentar as regiões individuais dos citoplasmas em grupos de células cervicais sobrepostas, o mesmo mostrou-se bastante eficaz em células isoladas. Com tudo isso, pode-se afirmar que o objetivo de propor, implementar e avaliar um algoritmo rápido de *level set* para segmentação hierárquica de núcleos de células cervicais e sua massa citoplasmática foi alcançado com sucesso.

6.2 Trabalhos Futuros

Dentre as sugestões para trabalhos futuros, destacam-se:

- utilizar algoritmos de classificação, como redes neurais artificiais, para identificar os núcleos na abordagem hierárquica proposta;
- desenvolver uma metodologia para segmentar as regiões individuais dos citoplasmas em aglomerados de células cervicais sobrepostas;
- classificar cada célula cervical segmentada do banco de dados Herlev em uma das 7 classes ou em 2 classes (normal ou anormal);
- estudar a aplicabilidade da abordagem hierárquica proposta em outros tipos de imagens;
- desenvolver um *software* para classificação automática de células cervicais, com o intuito de auxiliar o diagnóstico médico.

Referências

- AYED, I. B.; MITICHE, A.; BELHADJ, Z. Multiregion level-set partitioning of synthetic aperture radar images. **IEEE Transactions on Pattern Analysis Machine Intelligence**, v. 27, n. 5, p. 793–800, 2005.
- BADSHAH, Noor; CHEN, Ke. On two multigrid algorithms for modeling variational multiphase image segmentation. **IEEE Transactions on Image Processing**, v. 18, n. 5, p. 1097–1106, 2009.
- BERGMEIR, Christoph; SILVENTE, Miguel García; BENÍTEZ, José Manuel. Segmentation of cervical cell nuclei in high-resolution microscopic images: A new algorithm and a web-based software framework. **Computer Methods and Programs in Biomedicine**, v. 107, p. 497–512, 2012.
- BEUCHER, S.; LANTUEJOUL, C. Use of watersheds in contour detection. In: **International Workshop on Image Processing: Real-time Edge and Motion Detection/Estimation**. Rennes, França: [s.n.], 1979. p. 1–12.
- BEZDEK, James C. **Pattern Recognition with Fuzzy Objective Function Algorithms**. New York: Plenum Press, 1981.
- BISHOP, Christopher M. **Pattern Recognition and Machine Learning**. New York: Springer-Verlag, 2006.
- BISHOP, John W.; BIGNER, Sandra H.; COLGAN, Terry J.; HUSAIN, Mujtaba; HOWELL, Lydia Pleotis; MCINTOSH, Karen M.; TAYLOR, Dugald A.; SADEGHI, Masood H. Multicenter masked evaluation of autocyte prep thin layers with matched conventional smears. **Acta cytologica**, Karger Publishers, v. 42, n. 1, p. 189–197, 1998.
- BRADLEY, Andrew P.; BAMFORD, Pascal C. A one-pass extended depth of field algorithm based on the over-complete discrete wavelet transform. In: **Image and Vision Computing New Zealand (IVCNZ)**. Akaroa, New Zealand: [s.n.], 2004. p. 279–284.
- BREIMAN, Leo; FRIEDMAN, Jerome; STONE, Charles J.; OLSHEN, Richard A. **Classification and regression trees**. [S.l.]: CRC press, 1984.
- BRESSON, X.; ESEDOGLU, S.; VANDERGHEYNST, P.; THIRAN, J.-P.; OSHER, S. Fast global minimization of the active contour/snake model. **Journal of Mathematical Imaging and Vision**, v. 28, n. 2, p. 151–167, 2007.
- CARVALHO, Maria Cristina de Melo Pessanha; QUEIROZ, Ana Beatriz Azevedo. Lesões precursoras do câncer cervicouterino: evolução histórica e subsídios para consulta de enfermagem ginecológica. **Esc Anna Nery**, SciELO Brasil, v. 14, n. 3, p. 617–624, 2010.

CARVALHO, Nara de Oliveira. **Comparação dos métodos de tipagem do HPV por meio de amplificação por PCR usando-se iniciadores tipo-específicos e por sequenciamento direto do produto amplificado**. 121 p. Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-graduação em Patologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

CASELLES, V.; SAPIRO, G.; CHUNG, D.H. Vector median filters, vector morphology, and coupled pde's: Theoretical connections. **Journal of Mathematical Imaging and Vision**, v. 12, p. 109–120, 2000.

CAVALCANTE, José Roosivelt. **Imunoexpressão da Caderina-E nas cervicites, nas lesões intraepiteliais escamosas e no carcinoma invasor do colo uterino**. 75 p. Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-graduação em Patologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2013.

CHAMBOLLE, A.; CREMERS, D.; POCK, T. A convex approach to minimal partitions. **SIAM Journal on Imaging Sciences**, v. 5, n. 4, p. 1113–1158, 2012.

CHANKONG, Thanatip; THEERA-UMPON, Nipon; AUEPHANWIRIYAKUL, Sansanee. Automatic cervical cell segmentation and classification in Pap smears. **Computer methods and programs in biomedicine**, Elsevier, v. 113, n. 2, p. 539–556, 2014.

DELINGETTE, Hervé; MONTAGNAT, Johan. Shape and topology constraints on parametric active contours. **Computer Vision and Image Understanding**, Elsevier, v. 83, n. 2, p. 140–171, 2001.

ELEUTÉRIO JR., José. **Noções Básicas de Citologia Ginecológica**. 1. ed. São Paulo: Editora Santos, 2003.

FRANCO, Ramon Adrian Salinas. **Otimização do fluxo da informação no diagnóstico preventivo do câncer de colo de útero**. 133 p. Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-graduação em Ciência, Tecnologia e Sociedade, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2015.

FRAZER, Ian H.; COX, J. Thomas; Mayeaux Jr, Edward John; FRANCO, Eduardo L.; MOSCICKI, Anna-Barbara; PALEFSKY, Joel M.; FERRIS, Daron G.; FERENCZY, Alex S.; VILLA, Luisa L. Advances in prevention of cervical cancer and other human papillomavirus-related diseases. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, Lippincott Williams & Wilkins, v. 25, n. 2, p. 65–81, 2006.

GENÇTAV, Aslı; AKSOY, Selim; ÖNDER, Sevgen. Unsupervised segmentation and classification of cervical cell images. **Pattern Recognition**, v. 45, p. 4151–4168, 2012.

GONZALEZ, R. C.; WOODS, R. E. **Digital Image Processing**. 2. ed. Nova Jersey: Prentice Hall, 2002.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. Nomenclatura brasileira para laudos cervicais e condutas preconizadas: recomendações para profissionais de saúde. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 52, n. 3, p. 213–236, 2006.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **Câncer do colo do útero**. 2015. http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/colo_uterio. [Online; acessado em 15-12-2015].

- JAIN, Anil K. Data clustering: 50 years beyond k-means. **Pattern recognition letters**, Elsevier, v. 31, n. 8, p. 651–666, 2010.
- JANTZEN, Jan; DOUNIAS, George. Analysis of Pap-smear image data. In: **Nature-Inspired Smart Information Systems 2nd Annual Symposium**. Tenerife, Spain: [s.n.], 2006. p. 1–10.
- JEON, M.; ALEXANDER, M.; PEDRYCZ, W.; PIZZI, N. Unsupervised hierarchical image segmentation with level set and additive operator splitting. **Pattern Recognition Letters**, v. 26, p. 1461–1469, 2005.
- JUNG, Chanhoo; KIM, Changick; CHAE, Seoung Wan; OH, Sukjoong. Unsupervised segmentation of overlapped nuclei using bayesian classification. **IEEE Transactions on Biomedical Engineering**, v. 57, n. 12, p. 2825–2832, 2010.
- KALE, Asli; AKSOY, Selim. Segmentation of cervical cell images. In: IEEE. **20th International Conference on Pattern Recognition (ICPR)**. Istanbul, Turkey, 2010. p. 2399–2402.
- LELLMANN, J.; SCHNORR, C. Continuous multiclass labeling approaches and algorithms. **SIAM Journal on Imaging Sciences**, v. 4, n. 4, p. 1049–1096, 2011.
- LI, C.; XU, C.; GUI, C.; FOX, M. D. Level set evolution without re-initialization: a new variational formulation. In: IEEE. **Proc. of IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition**. San Diego, 2005. p. 430–436.
- LI, Chunming; XU, Chenyang; GUI, Changfeng; FOX, Martin D. Distance regularized level set evolution and its application to image segmentation. **IEEE Transactions on Image Processing**, v. 19, n. 12, p. 3243–3254, 2010.
- LI, Kuan; LU, Zhi; LIU, Wenyin; YIN, Jianping. Cytoplasm and nucleus segmentation in cervical smear images using Radiating GVF Snake. **Pattern Recognition**, v. 45, p. 1255–1264, 2012.
- LIMA, Daisy Nunes de Oliveira. **Atlas de citopatologia ginecológica**. 1. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2012.
- LU, Z; CARNEIRO, G; BRADLEY, A. An improved joint optimization of multiple level set functions for the segmentation of overlapping cervical cells. **IEEE Transactions on Image Processing**, v. 24, n. 4, p. 1261–1272, 2015.
- LU, Zhi; CARNEIRO, Gustavo; BRADLEY, Andrew P. Automated nucleus and cytoplasm segmentation of overlapping cervical cells. In: **Medical Image Computing and Computer Assisted Intervention (MICCAI 2013)**. Nagoya, Japan: Springer, 2013. p. 452–460.
- MARQUES, Regis Cristiano Pinheiro. **Caracterização de regiões em imagens de radar de abertura sintética com aplicações de segmentação por level set**. 107 p. Tese (Doutorado) — Programa de Pós-graduação em Engenharia de Teleinformática, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011.
- MATAS, Jiri; CHUM, Ondrej; URBAN, Martin; PAJDLA, Tomás. Robust wide-baseline stereo from maximally stable extremal regions. **Image and Vision Computing**, Elsevier, v. 22, n. 10, p. 761–767, 2004.

- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **FALANDO SOBRE CÂNCER DO COLO DO ÚTERO**. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde, 2002.
- MITICHE, A.; AYED, I. B. **Variational and Level Set Methods in Image Segmentation**. Berlin: Springer-Verlag, 2010.
- MUMFORD, David; SHAH, Jayant. Optimal approximations by piecewise smooth functions and associated variational problems. **Communications on Pure and Applied Mathematics**, v. 42, p. 577–685, 1989.
- NAPOLITANO, Lia Munhoz Benati. **Implementação Numérica do Método *Level Set* para Propagação de Curvas e Superfícies**. 85 p. Dissertação (Mestrado) — Departamento de Física e Ciência dos Materiais, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2004.
- NI, Kangyu; HONG, Byung-Woo; SOATTO, Stefano; CHAN, Tony. Unsupervised multiphase segmentation: A recursive approach. **Computer Vision and Image Understanding**, v. 113, p. 502–510, 2009.
- NORUP, Jonas. **Classification of pap-smear data by transductive neuro-fuzzy methods**. 82 p. Dissertação (Mestrado) — Universidade Técnica da Dinamarca, Dinamarca, 2005.
- PAULA JR., I. C.; MEDEIROS, F. N. S.; BEZERRA, F. N.; USHIZIMA, D. M. Multiscale corner detection in planar shapes. **Journal of Mathematical Imaging and Vision**, v. 45, p. 251–263, 2012.
- PESSOA, Nara Diniz Soares. **Estudos sobre a expressão do Papilomavirus Humano (HPV): avaliação comparativa sobre lesões cervicais, sangue periférico e retinoblastomas**. 141 p. Tese (Doutorado) — Programa de Pós-graduação Interunidades em Biotecnologia, Instituto Butantan, São Paulo, 2014.
- PLISSITI, M.E.; CHARCHANTI, A.; KRIKONI, O.; FOTIADIS, D.I. Automated segmentation of cell nuclei in Pap smear images. In: CITESEER. **Proc. of the IEEE International Conference on Information Technology and Applications in Biomedicine (ITAB 2006)**. Ioannina, Greece, 2006. p. 1–4.
- PLISSITI, Marina E.; LOUKA, Eleni; NIKOU, Christophoros. Splitting of overlapping nuclei guided by robust combinations of concavity points. In: SPIE. **Medical Imaging 2014: Image Processing**. California, USA, 2014. p. 31–37.
- PLISSITI, Marina E.; NIKOU, Christophoros. Overlapping cell nuclei segmentation using a spatially adaptive active physical model. **IEEE Transactions on Image Processing**, v. 21, n. 11, p. 4568–4580, 2012.
- PLISSITI, Marina E.; NIKOU, Christophoros; CHARCHANTI, Antonia. Accurate localization of cell nuclei in Pap smear images using gradient vector flow deformable models. In: **Proc. of the 3rd International Conference on Bio-inspired Signals and Systems (BIOSIGNALS)**. Valencia, Spain: [s.n.], 2010. p. 284–289.
- PLISSITI, Marina E.; NIKOU, Christophoros; CHARCHANTI, Antonia. Watershed-based segmentation of cell nuclei boundaries in Pap smear images. In: IEEE. **IEEE International Conference on Information Technology and Applications in Biomedicine (ITAB)**. Corfu, Greece, 2010. p. 1–4.

- PLISSITI, Marina E.; NIKOU, Christophoros; CHARCHANTI, Antonia. Automated detection of cell nuclei in Pap smear images using morphological reconstruction and clustering. **IEEE Transactions on Information Technology in Biomedicine**, v. 15, n. 2, p. 233–241, 2011.
- PLISSITI, Marina E.; NIKOU, Christophoros; CHARCHANTI, Antonia. Combining shape, texture and intensity features for cell nuclei extraction in Pap smear images. **Pattern Recognition Letters**, v. 32, p. 838–853, 2011.
- RAMALHO, G. L. B.; FERREIRA, D. S.; BIANCHI, A. G. C.; CARNEIRO, C. M.; MEDEIROS, F. N. S.; USHIZIMA, D. M. Cell reconstruction under Voronoi and enclosing ellipses from 3D microscopy. **IEEE International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI)**, New York, NY, abr. 2015.
- REAGAN, James W.; SEIDEMANN, Ilse L.; SARACUSA, Yolanda. The cellular morphology of carcinoma in situ and dysplasia or atypical hyperplasia of the uterine cervix. **Cancer**, Wiley Online Library, v. 6, n. 2, p. 224–235, 1953.
- SELLORS, John W.; SANKARANARAYANAN, R. **Colposcopy and Treatment of Cervical Intraepithelial Neoplasia: A Beginners' Manual**. Lyon, 2003.
- SERRA, J. **Image Analysis and Mathematical Morphology**. New York: Academic Press, 1982.
- SERRA, J. **Image Analysis and Mathematical Morphology, Part II**. London: Academic Press, 1988.
- SETHIAN, J. A. **Level Set Methods and Fast Merging Methods: Evolving Interfaces in Computational Geometry, Fluid Mechanics, Comput. Vision and Materials Science**. 1. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1999.
- SHI, Y.; KARL, W. C. Real-time tracking using level sets. In: IEEE. **Proc. of IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition**. San Diego, 2005. p. 34–41.
- SOUZA, Sandra Ely Barbosa de. **Conhecimento e atitude de enfermeiros sobre câncer do colo do útero, infecção pelo Papilomavirus humano e vacinas contra Papilomavirus humano**. 100 p. Tese (Doutorado) — Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, 2015.
- STEVENS, Alan; LOWE, James. **Human histology**. 2. ed. UK: Times Mirror International Publishers Ltd, 1997.
- USHIZIMA, D. M.; BIANCHI, A. G. C.; CARNEIRO, C. Segmentation of subcellular compartments combining superpixel representation with Voronoi diagrams. **IEEE International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI) - 1st place in Code Competition**, Beijing, CH, abr. 2014.
- VAPNIK, Vladimir Naumovich; KOTZ, Samuel. **Estimation of dependences based on empirical data**. New York: Springer-Verlag, 1982.
- VEDALDI, Andrea; SOATTO, Stefano. Quick shift and kernel methods for mode seeking. In: **10th European Conference on Computer Vision (ECCV)**. Marseille: Springer, 2008. p. 705–718.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Comprehensive Cervical Cancer Control: A guide to Essential Practice**. 2. ed. Geneva, Switzerland: World Health Organization Press, 2014.

XU, Chenyang; PRINCE, Jerry L. Snakes, shapes, and gradient vector flow. **IEEE Transactions on Image Processing**, v. 7, n. 3, p. 359–369, 1998.

ZELMANOWICZ, Alice de Medeiros. **Avaliação da História Familiar de Câncer como Co-Fator Associado ao Aumento do Risco de Câncer de Cérvix Uterina**. 91 p. Tese (Doutorado) — Programa de Pós-graduação em Epidemiologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

ZHANG, Ling; CHEN, Siping; WANG, Tianfu; CHEN, Yan; LIU, Shaoxiong; LI, Minghua. A practical segmentation method for automated screening of cervical cytology. In: **IEEE International Conference on Intelligent Computation and Bio-Medical Instrumentation (ICBBI)**. Wuhan, China, 2011. p. 140–143.

ZHANG, Ling; KONG, Hui; CHIN, Chien Ting; LIU, Shaoxiong; CHEN, Zhi; WANG, Tianfu; CHEN, Siping. Segmentation of cytoplasm and nuclei of abnormal cells in cervical cytology using global and local graph cuts. **Computerized Medical Imaging and Graphics**, v. 38, p. 369–380, 2014.

ZHU, G.; ZHANG, S.; ZENG, Q.; WANG, C. Boundary-based image segmentation using binary level set method. **Optical Engineering Letters**, v. 46, n. 5, p. 1–3, 2007.

ZIJDENBOS, Alex P.; DAWANT, Benoit M.; MARGOLIN, Richard A.; PALMER, Andrew C. Morphometric analysis of white matter lesions in MR images: method and validation. **IEEE Transactions on Medical Imaging**, v. 13, n. 4, p. 716–724, 1994.