

---

# **Métodos Computacionais para Análise e Classificação de Displasias em Imagens da Cavidade Bucal**

---

**Adriano Barbosa Silva**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
FACULDADE DE COMPUTAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DA COMPUTAÇÃO

Uberlândia  
2019



**Adriano Barbosa Silva**

**Métodos Computacionais para Análise e  
Classificação de Displasias em Imagens da  
Cavidade Bucal**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação da Faculdade de Computação da Universidade Federal de Uberlândia como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciência da Computação.

Área de concentração: Ciência de Dados

Orientador: Marcelo Zanchetta do Nascimento

Uberlândia  
2019

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU  
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

S586 Silva, Adriano Barbosa, 1991-  
2019      Métodos Computacionais para Análise e Classificação de  
Displasias em Imagens da Cavidade Bucal [recurso eletrônico] /  
Adriano Barbosa Silva. - 2019.

Orientador: Marcelo Zanchetta do Nascimento.  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,  
Pós-graduação em Ciência da Computação.  
Modo de acesso: Internet.  
Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2019.2390>  
Inclui bibliografia.  
Inclui ilustrações.

1. Computação. I. do Nascimento, Marcelo Zanchetta, 1976-,(Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Ciência da Computação. III. Título.

CDU: 681.3

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:  
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091  
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



## UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Computação  
Av. João Naves de Ávila, nº 2121, Bloco 1A, Sala 243 - Bairro Santa Mônica, Uberlândia-MG, CEP 38400-902  
Telefone: (34) 3239-4470 - [www.ppgco.facom.ufu.br](http://www.ppgco.facom.ufu.br) - [cpgfacom@ufu.br](mailto:cpgfacom@ufu.br)



### ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Ciência da Computação				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico, 10/2019, PPGCO				
Data:	27 de agosto de 2019	Hora de início:	<b>14:03</b>	Hora de encerramento:	<b>15:40</b>
Matrícula do Discente:	11712CCP001				
Nome do Discente:	Adriano Barbosa Silva				
Título do Trabalho:	Métodos Computacionais para Análise e Classificação de Displasias em Imagens da cavidade Bucal				
Área de concentração:	Ciência da Computação				
Linha de pesquisa:	Ciência de Dados				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	-				

Reuniu-se na sala 1B132, Bloco 1B, Campus Santa Mônica, da Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Ciência da Computação, assim composta: Professores Doutores: André Ricardo Backes - FACOM/UFU, Prof. Dr. Rodrigo Pereira Ramos - CENEL/UNIVASF e Prof. Dr. Marcelo Zanchetta do Nascimento - FACOM/UFU, orientador do candidato.

Ressalta-se que o Prof. Dr. Rodrigo Pereira Ramos participou da defesa por meio de videoconferência desde a cidade de Juazeiro - BA. Os outros membros da banca e o aluno participaram in loco.

Iniciando os trabalhos o presidente da mesa, Prof. Dr. Marcelo Zanchetta do Nascimento, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato, agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos examinadores, que passaram a arguir o candidato. Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o candidato:

#### Aprovado

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.

Documento assinado eletronicamente por **André Ricardo Backes, Professor(a) do Magistério Superior**, em 28/08/2019, às 10:19, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Marcelo Zanchetta do Nascimento, Professor(a) do Magistério Superior**, em 29/08/2019, às 10:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rodrigo Pereira Ramos, Usuário Externo**, em 09/09/2019, às 09:08, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://www.sei.ufu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **1500637** e o código CRC **E3FE9775**.

*Dedico este trabalho aos meus pais, que sempre acreditaram em mim.*



---

## Agradecimentos

Agradeço ao meu orientador, Marcelo Zanchetta do Nascimento, pelos ensinamentos, paciência, confiança em meu trabalho e por me motivar nos momentos em que eu duvidei de minha capacidade. Agradeço também ao professor Paulo Rogério de Faria pelo conhecimento transmitido em muitos momentos e por toda a ajuda ao longo do desenvolvimento deste trabalho. Ao professor Alessandro Santana Martins pelas contribuições e ajuda na etapa de classificação das lesões.

Aos professores da Faculdade de Computação da Universidade Federal de Uberlândia, com quem tive a oportunidade de expandir áreas do meu conhecimento e que auxiliaram este projeto. Agradeço o apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq (Projetos: 304848/2018-2, 430965/2018-4 e 313365/2018-0) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais - FAPEMIG (Projeto: APQ-00578-18). O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Aos amigos que fiz no Laboratório Interdisciplinar de Processamento e Análise de Imagens (LIPAI) pelo auxílio em muitos momentos deste projeto, em especial a Thaína e o Guilherme. Aos amigos que fiz no Laboratório de Inovações em Tecnologias Digitais (LITeD) pela ajuda oferecida e pelos momentos de risos. Aos amigos que fiz em Uberlândia por estarem ao meu lado em todos os momentos, sejam eles momentos difíceis, de tristeza, de felicidade ou de comemoração, em especial ao Guilherme Orpheu.

À minha família, que sempre me apoiou em todos os momentos da minha vida, em especial aos meus pais e ao meu irmão, que me motivaram e auxiliaram em todos os momentos. Agradeço especialmente ao meu primo Caio pelo auxílio com este projeto e pelos equipamentos emprestados que foram essenciais para a conclusão deste trabalho.

Por fim, agradeço à Camila Bella, minha namorada que, nos últimos dez anos, tem sido minha companheira, amiga e minha fonte de motivação e inspiração.



*“Não importa o que aconteça, continue a nadar.”*

*(Graham Walters)*



---

## Resumo

Nos últimos anos, o uso de sistemas computacionais como ferramenta para auxílio em diagnósticos vem mostrando grande crescimento em aplicações voltadas à análise de tecidos histológicos. Algoritmos computacionais são utilizados por permitir a extração de informações que possibilitem a quantificação de lesões. Isso simplifica o processo de diagnóstico manual realizado por especialista, que demanda muito tempo, energia e é sujeito a fatores de subjetividade. Com o objetivo de aprimorar o processo de diagnóstico de displasias orais, este trabalho propõe um método para segmentação e classificação de estruturas nucleares presentes em imagens de tecidos histológicos. O método proposto é dividido nas etapas de segmentação, pós-processamento, extração de características e classificação. Na etapa de segmentação, a rede neural *Mask R-CNN* foi utilizada para identificar informações significantes para separar núcleos celulares de região de fundo. Na etapa de pós-processamento, operações de dilatação, preenchimento de regiões e erosão foram utilizadas para preencher regiões de núcleo incompletas e remover ruídos remanescentes da segmentação. Na etapa de extração de características, atributos de textura e morfologia foram extraídos dos núcleos das imagens. Por fim, um algoritmo classificador polinomial foi utilizado para classificar as imagens entre tecido saudável, displasia leve, displasia moderada e displasia severa. Os resultados obtidos foram comparados com o padrão-ouro gerado por um especialista e com outros métodos presentes na literatura. O método obteve acurácia de 89,52% na fase de segmentação dos componentes nucleares, sendo esse valor 14% maior do que outros métodos. Durante a etapa de classificação, o método de classificação obteve um valor de área sob a curva ROC igual a 0,92, um valor 6,5% mais alto do que outros métodos. O método obteve resultados mais relevantes em relação a outros métodos presentes na literatura, mostrando que pode ser utilizado por especialistas da área da saúde como uma ferramenta para estudo de lesões pré-câncer.

**Palavras-chave:** Displasia. Imagens Histológicas. Segmentação Nuclear. Redes Neurais Convolucionais. Classificador Polinomial. Processamento Digital de Imagens.



---

## Abstract

In recent years, the use of computer systems as a tool for diagnostic assistance has shown significant growth in applications aimed at histological tissues analysis. Computational algorithms are used to extract information that allows the quantification of lesions. This simplifies the manual diagnostic process performed by a specialist, which requires a lot of time, energy and is subject to subjectivity factors. In order to improve the diagnostic process of oral dysplasias, this work proposes a method for segmentation and classification of nuclear structures present in images of histological tissues. The proposed method is divided into the stages of segmentation, post-processing, feature extraction and classification. In the segmentation stage, the neural network Mask R-CNN was used to identify significant information to separate cell nuclei from background region. In the post-processing stage, dilation, region filling, and erosion operations were used to fill incomplete nuclei regions and remove remaining noise from the segmentation stage. In the feature extraction stage, texture and morphologic attributes were extracted from the images nuclei. Finally, a polynomial classifier algorithm was used to classify the images among healthy tissue, mild dysplasia, moderate dysplasia and severe dysplasia. The obtained results were compared with the groundtruth generated by a specialist and with other methods present in literature. The method obtained accuracy of 89.52% in the segmentation of the nuclear components, which is 14% higher than other methods. During the classification stage, the classification method obtained a value of area under the ROC curve of 0.92, a value 6.5% higher than other methods. The method obtained results more relevant than other methods in literature, showing that it can be used by health specialists as a tool to study pre-cancer lesions.

**Keywords:** Dysplasia. Histological Imagens. Nuclei Segmentation. Convolutional Neural Networks. Polynomial Classifier. Digital Image Processing.



---

## List a de ilustrações

Figura 1 – Exemplos de tecidos histológicos orais: (a) tecido saudável, (b) displasia leve, (c) displasia moderada e (d) displasia severa. As setas em cor vermelha indicam núcleos celulares e as setas em cor azul indicam o epitélio. . . . .	33
Figura 2 – Exemplo de um neurônio biológico das RNA. . . . .	38
Figura 3 – Exemplo de um neurônio artificial. Imagem adaptada de (HAYKIN et al., 2009). . . . .	38
Figura 4 – Exemplo de uma operação de convolução: (a) uma imagem de tamanho $7 \times 5$ , (b) um filtro de convolução de tamanho $3 \times 3$ e (c) uma matriz de características resultante. . . . .	39
Figura 5 – Ilustração da operação de <i>max-pooling</i> em uma matriz de tamanho $4 \times 4$ . . . . .	40
Figura 6 – Exemplo da aplicação de <i>average-pooling</i> em um mapa de tamanho $4 \times 4$ . . . . .	41
Figura 7 – Exemplo da aplicação de uma operação de dilatação em que um elemento estruturante de tamanho $3 \times 3$ empregado em uma imagem binária. Imagem retirada de (SOLOMON; BRECKON, 2000). . . . .	42
Figura 8 – Exemplo da aplicação de uma operação de erosão sobre uma imagem binária. Imagem retirada de (SOLOMON; BRECKON, 2000). . . . .	42
Figura 9 – Fluxograma das principais etapas empregadas na quantificação de displasia oral. . . . .	51
Figura 10 – Exemplo de tecido histológico da cavidade bucal: (a) saudável, (b) displasia leve, (c) displasia moderada e (d) displasia severa. . . . .	53
Figura 11 – Arquitetura da rede neural <i>ResNet50</i> empregada na etapa de segmentação dos núcleos do tecido histológico. . . . .	53
Figura 12 – Representação do mapeamento residual, onde o resíduo de um bloco de camadas é somado à saída do bloco seguinte. Imagem retirada de (HE et al., 2016) . . . . .	55
Figura 13 – Representação da função de ativação ReLU. . . . .	55
Figura 14 – Arquitetura da rede <i>Mask R-CNN</i> para classificação dos dados obtidos. . . . .	56

Figura 15 – Modelo da RPN aplicada à rede neural ResNet 50. Imagem retirada de (JADER et al., 2018) . . . . .	57
Figura 16 – Exemplo de caixas delimitadoras geradas para os núcleos presentes em um tecido. . . . .	57
Figura 17 – Exemplo de máscaras resultantes: (a) imagem original, (b) (c) e (d) máscaras geradas para núcleos presentes na imagem. . . . .	58
Figura 18 – Operação de dilatação binária: (a) máscara binária de núcleos displásicos com ruídos, (b) elemento estruturante em forma de cruz com tamanho $3 \times 3$ , (c) máscara após a operação, (d) e (e) mostram a aplicação das máscaras (a) e (c) sobre a imagem original, respectivamente. . . . .	59
Figura 19 – Operação de preenchimento de regiões: (a) apresenta a imagem após a dilatação, (b) apresenta a aplicação da máscara sobre a imagem original. a imagem após a operação pode ser visto em (c) e a aplicação dessa máscara sobre a imagem original é mostrado em (d). . . . .	60
Figura 20 – Operação de erosão binária: (a) máscara binária após dilatação e preenchimento de buracos, (b) elemento estruturante em forma de cruz com tamanho $3 \times 3$ , (c) máscara após a erosão. A aplicação das máscaras (a) e (c) pode ser vista em (d) e (e), respectivamente. . . . .	61
Figura 21 – Processo de segmentação após as operações de pós processamento envolvendo operações morfológicas. . . . .	61
Figura 22 – Exemplo da curva <i>ROC</i> , traçada pela $S_E$ versus a <i>TFP</i> de objetos classificados. Em azul está a área sob a curva, que define o desempenho do sistema ao classificar um núcleo entre duas classes. . . . .	66
Figura 23 – Comparação de desempenho da <i>Mask R-CNN</i> nas redes <i>ResNet50</i> e <i>ResNet101</i> . . . . .	68
Figura 24 – Avaliação da rede utilizando 50, 150 e 250 iterações. . . . .	68
Figura 25 – Segmentação em uma imagem de tecido saudável com uso da <i>Mask R-CNN</i> : (a) imagem original, (b) padrão-ouro, (c) máscara resultante e (d) aplicação da máscara sobre a imagem original. As setas em vermelho indicam regiões FP. . . . .	69
Figura 26 – Segmentação em uma imagem de displasia leve através da <i>Mask R-CNN</i> : (a) imagem original, (b) padrão-ouro, (c) máscara resultante e (d) aplicação da máscara sobre a imagem original. As setas em verde indicam regiões FN. . . . .	69
Figura 27 – Segmentação em uma imagem de displasia moderada utilizando a <i>Mask R-CNN</i> : (a) imagem original, (b) padrão-ouro, (c) máscara resultante e (d) aplicação da máscara. As setas em vermelho indicam regiões de FP e as setas em verde indicam regiões FN. . . . .	70

Figura 28 – Segmentação em uma imagem de displasia severa com uso da <i>Mask R-CNN</i> : (a) imagem original, (b) padrão-ouro, (c) máscara resultante e (d) aplicação da máscara sobre a imagem original. As setas em vermelho indicam regiões de FP e as setas em verde indicam FN. . . . .	71
Figura 29 – Etapas de pós-processamento em uma imagem de displasia severa: (a) imagem original, (b) máscara após a segmentação, (c) máscara binária após a operação de dilatação e (d) aplicação da operação de preenchimento de buracos, (e) máscara binária após a operação de erosão e (f) aplicação da máscara sobre a imagem original. . . . .	72
Figura 30 – Eliminação de um objeto com área menor do que 30 <i>pixels</i> . . . . .	72
Figura 31 – $A_C$ da segmentação das imagens de tecidos saudáveis, displasia leve, displasia moderada e displasia severa em comparação ao padrão-ouro. . . . .	73
Figura 32 – Resultado de segmentação de um tecido saudável. Em (a) e (b) são apresentadas a imagem original e o padrão-ouro presentes nas Figuras 25(a) e (b), respectivamente. Em (c) e (f) podem ser exibidas a máscara e o resultado final para a segmentação com o método <i>Otsu</i> . A máscara e segmentação com o <i>K-means</i> são apresentadas em (d) e (g). Em (e) e (h) os resultados com o método <i>SegNet</i> são mostrados. As setas em cor vermelha indicam regiões de FP e as setas na cor verde indicam FN. . . . .	75
Figura 33 – Resultados da segmentação de uma displasia leve. Em (a) e (b) são apresentadas a imagem original e o padrão-ouro presentes nas Figuras 26(a) e Figuras 26(b), respectivamente. Em (c) e (f) podem ser exibidas a máscara e o resultado final para a segmentação com o método <i>Otsu</i> . A máscara e segmentação com o <i>K-means</i> são apresentadas em (d) e (g). Já em (e) e (h) os resultados com o método <i>SegNet</i> são mostrados. As setas em cor vermelha indicam regiões de FP e as setas na cor verde indicam regiões de FN. . . . .	76
Figura 34 – Resultado de segmentação de uma displasia moderada. Em (a) e (b) são apresentadas a imagem original e o padrão-ouro presentes nas Figuras 27(a) e 27(b), respectivamente. Em (c) e (f) são exibidas a máscara e o resultado para a segmentação com o método <i>Otsu</i> . A máscara e segmentação com o <i>K-means</i> são apresentadas em (d) e (g). Em (e) e (h) são mostrados os resultados com o método <i>SegNet</i> . As setas em cor vermelha indicam regiões de FP e as setas na cor verde indicam FN. . . . .	77

Figura 35 – Resultado de segmentação de uma displasia severa. Em (a) e (b) são apresentadas as imagens original e o padrão-ouro presentes nas Figuras 28(a) e 28(b), respectivamente. Em (c) e (f) são exibidas a máscara e o resultado para a segmentação com o método *Otsu*. A máscara e segmentação com o *K-means* são apresentadas em (d) e (g). Os resultados com o método *SegNet* são mostrados em (e) e (h). As setas em cor vermelha indicam regiões de FP e as setas na cor verde indicam FN. 78

---

## **Lista de tabelas**

Tabela 1 – Trabalhos realizados na área de processamento de imagens histológicas relacionadas ao câncer oral . . . . .	47
Tabela 2 – Avaliação do método proposto em tecidos com diferentes níveis de displasia. . . . .	73
Tabela 3 – Comparação entre o método proposto e técnicas presentes na literatura. . . . .	78
Tabela 4 – Resultados das classificações $S \times L$ , $S \times M$ e $S \times S_E$ com uso do classificador POL. Em cada linha é apresentada a quantidade de VP, FN, FP e VN obtida em cada <i>fold</i> . . . . .	79
Tabela 5 – Resultados das classificações $L \times M$ , $L \times S_E$ e $M \times S_E$ com uso do classificador POL. . . . .	79
Tabela 6 – Comparação dos resultados obtidos pelo <i>POL</i> e pelos algoritmos <i>Multilayer Perceptron</i> , <i>Árvore de Decisão</i> e <i>Random Forests</i> . . . . .	80
Tabela 7 – Resultados obtidos em métodos de segmentação e classificação de tecidos histológicos da cavidade bucal e da metodologia proposta. . . . .	82
Tabela 8 – Informações estatísticas de média e desvio padrão para as características de Entropia nas escalas $3 \times 3$ , $5 \times 5$ , $7 \times 7$ e $9 \times 9$ . . . . .	98
Tabela 9 – Informações estatísticas de média e desvio padrão para as características de Entropia nas escalas $11 \times 11$ , $13 \times 13$ e $15 \times 15$ e <i>Índice Moran</i> . . . . .	99
Tabela 10 – Informações estatísticas de média e desvio padrão para as características de área, excentricidade, perímetro, orientação, e solidez. . . . .	100



---

## **Lista de siglas**

**AUC** *Area Under the Curve*

**CAD** *Computer Aided Diagnosis*

**FCN** *Fully Convolutional Network*

**FSO** Fibrose Submucosa Oral

**GMM** *Gaussian Mixture Model Classifier*

**H&E** Hematoxilina e Eosina

**RBFN** *Radial Basis Function Network*

**ReLU** *Rectified Linear Unit*

**ROI** *Region of Interest*

**RGB** *Red, Green and Blue*

**RNA** Redes Neurais Artificiais

**RNC** Redes Neurais Convolucionais

**ROC** *Receiver Operating Characteristic*

**RPN** *Region Proposal Network*

**SGD** *Stochastic Gradient Descent*

**SL** *Simple Logistic*

**SVM** *Support Vector Machines*



---

# Sumário

1	INTRODUÇÃO . . . . .	25
1.1	Motivação . . . . .	26
1.2	Objetivos e Desafios da Pesquisa . . . . .	27
1.3	Hipótese . . . . .	27
1.4	Contribuições . . . . .	28
1.5	Organização da Dissertação ou Tese . . . . .	28
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA . . . . .	31
2.1	Câncer . . . . .	31
2.2	Lesões pré-cancerosas . . . . .	32
2.3	Displasia . . . . .	32
2.4	Histologia . . . . .	34
2.4.1	Preparação dos tecidos . . . . .	34
2.5	Digitalização de imagens histológicas . . . . .	35
2.6	Processamento de imagens histológicas . . . . .	35
2.7	Redes Neurais Artificiais . . . . .	37
2.8	Redes Neurais Convolucionais . . . . .	39
2.9	Operações Morfológicas . . . . .	41
3	PROCESSAMENTO DE IMAGENS HISTOLÓGICAS ORAIS: ESTADO DA ARTE . . . . .	43
3.1	Levantamento do Estado da Arte . . . . .	43
3.2	Considerações finais . . . . .	50
4	METODOLOGIA . . . . .	51
4.1	Visão Geral da Metodologia . . . . .	51
4.2	Construção do Banco de Imagens . . . . .	52
4.3	Segmentação . . . . .	53

4.3.1	ResNet50 . . . . .	53
4.3.2	Mask R-CNN . . . . .	56
4.4	Pós Processamento . . . . .	58
4.5	Extração de Características . . . . .	62
4.6	Classificação . . . . .	63
4.7	Métricas de Avaliação . . . . .	64
5	<b>EXPERIMENTOS E ANÁLISE DOS RESULTADOS . . . . .</b>	67
5.1	Avaliação no Treinamento da Rede . . . . .	67
5.2	Segmentação . . . . .	67
5.2.1	Pós-processamento . . . . .	71
5.3	Análise Comparativa com Técnicas para a Segmentação . . . . .	73
5.4	Análise Quantitativa das Imagens Histológicas da Cavidade Bucal . . . . .	78
6	<b>CONCLUSÃO . . . . .</b>	83
6.1	Principais Contribuições . . . . .	84
6.2	Trabalhos Futuros . . . . .	84
6.3	Contribuições em Produção Bibliográfica . . . . .	84
	<b>REFERÊNCIAS . . . . .</b>	87
	<b>APÊNDICES</b>	95
	<b>APÊNDICE A – CARACTERÍSTICAS UTILIZADAS PARA CLASSIFICAÇÃO ENTRE LESÕES DISPLÁSICAS</b>	97

# CAPÍTULO 1

---

## Introdução

O estudo do câncer vem ganhando cada vez mais atenção de pesquisadores e organizações de saúde ao redor do mundo pelo fato de apresentar uma crescente taxa de incidência, principalmente em países em desenvolvimento (KUMAR; ASTER; ABBAS, 2010). A Organização Mundial da Saúde, por meio da Organização Internacional de Pesquisa em Câncer, estimou a ocorrência de 20 milhões de novos casos de câncer até 2025 (WILD; STEWART, 2014). Dados estatísticos publicados pelo Instituto Nacional de Câncer estimam a incidência de cerca de 600 mil novos casos de câncer para os anos de 2018 e 2019, sendo que cerca de 15 mil casos são de câncer da cavidade oral (INCA, 2017).

O câncer da cavidade oral é um dos dez tipos de câncer mais comuns e a sexta maior causa de morte por câncer no mundo (KRISHNAN et al., 2010). Por mais que, nas últimas décadas, os métodos para identificação da doença tenham sido aprimorados, esse tipo de lesão apresenta 50% de chance de sobrevivência em 5 anos após diagnóstico (INCA, 2017). Esses dados estatísticos mostram a necessidade de técnicas mais precisas no diagnóstico dessa doença. Para isso, são necessários estudos e análises de suas características, bases moleculares e quais lesões podem evoluir para o câncer (MCGREGOR et al., 2002; KUMAR; ASTER; ABBAS, 2010).

Devido à necessidade de estudar lesões com potencial maligno, este trabalho abordará as displasias orais. Displasias são alterações na estrutura morfológica das células (como tamanho, formato e cor) e são classificadas em leve, moderada e severa de acordo com a intensidade dessas alterações (SMITH et al., 2009; FONSECA-SILVA et al., 2016). O diagnóstico desse tipo de lesão é um exemplo onde a subjetividade do diagnóstico está presente, mostrando taxa de divergência de diagnósticos entre 22% e 63% (ABBEY et al., 1995; SMITH et al., 2009). Isto ocorre porque o diagnóstico se baseia no tamanho da lesão, o quanto da camada epitelial foi afetada e o grau de severidade das alterações nucleares. Dessa forma, visto que essas características não são relacionadas, é possível atribuir o mesmo grau de displasia para lesões de tamanhos diferentes ou então atribuir diferentes graus para lesões que apresentam a mesma intensidade de alterações (WAR-

NAKULASURIYA et al., 2008; KUMAR; ASTER; ABBAS, 2010).

O uso de esquemas de sistemas computacionais de auxílio ao diagnóstico (do inglês: *Computer Aided Diagnosis (CAD)*) mostra grande crescimento em aplicações para diagnóstico histopatológico, proporcionando análise quantitativa em grande número de dados histológicos, como imagens e sinais, e em padrões e características que o ser humano não é capaz de perceber (GONZALEZ; WOODS, 2010; KRISHNAN et al., 2010; BELSARE; MUSHRIF, 2012; BOROVEC, 2013). Entre as técnicas utilizadas para diagnóstico de anomalias histológicas, o processamento digital de imagens é muito utilizado, pois permite a identificação dos elementos do tecido e a análise aprofundada de suas características (SOLOMON; BRECKON, 2000; GONZALEZ; WOODS, 2010).

Na análise de tecidos histológicos, uma tarefa de suma importância é a identificação de tipos objeto que compõe esses tecidos e suas características (GONZALEZ; WOODS, 2010). Para isso, são utilizadas técnicas para segmentação de regiões e reconhecimento de características, como tamanho e formato nuclear, para o diagnóstico de doenças. Essa tarefa é difícil por conta das estruturas histológicas apresentarem aspecto visual irregular (IRSHAD et al., 2014). Devido a esse problema, um crescente número de estudos vem sendo desenvolvido de maneira a combinar processamento digital de imagens e histologia para, assim, auxiliar na análise em padrões não óbvios à percepção humana e contribuir com resultados mais precisos.

Muitos dos trabalhos relacionados às imagens histológicas da cavidade oral focam-se na identificação de cânceres ou de lesões pré-câncer em estágio avançado, como visto nos trabalhos (KRISHNAN et al., 2009), (DAS et al., 2015), (BAIK et al., 2014) e (BANERJEE et al., 2015). Dessa forma, há uma carência na quantidade de estudos de lesões pré-câncer em estágio inicial.

Um dos grandes desafios em relação à análise de imagens histológicas de displasias é a definição de regiões que possibilitem definir as características de alterações em relação a forma, tamanho ou organização de um determinado tecido, que são categorizadas em leve, moderada ou severa (WARNAKULASURIYA et al., 2008; DAS et al., 2015). O estudo de novos algoritmos computacionais para análise desse tipo de lesão pode trazer informações quantitativas e sem subjetividade aos especialistas durante a etapa de análise dos tecidos histológicos, além de reduzir o tempo necessário para diagnóstico. Assim, a investigação e a aplicação de métodos automatizados para análise de tecidos histológicos torna-se relevante para especialistas da área.

## 1.1 Motivação

Na fase de análise de informações internas dos tecidos histológicos da região da boca, as alterações em relação a forma, tamanho ou organização de um determinado tecido podem apresentar diferentes níveis de displasias. Desses níveis, o severo pode ser denominado

de carcinoma *in situ*, que é uma forma precoce de tumor (KUMAR; ASTER; ABBAS, 2010).

O diagnóstico precoce e a correta detecção do grau de severidade de displasia é importante pois permite que o paciente possa receber o correto tratamento antes que a lesão torne-se mais grave ou possa evoluir para um câncer, trazendo risco para a vida do mesmo (KUMAR; ABBAS; ASTER, 2013). O procedimento de diagnóstico manual de displasias envolve etapas complexas e trabalhosas, demanda muito tempo do patologista e está sujeito à experiência do profissional (WARNAKULASURIYA et al., 2008; SMITH et al., 2009).

Técnicas computacionais são empregadas em contexto médico por conta da sua capacidade de extrair e analisar informações de maneira rápida. Por conta disso, é possível realizar análise quantitativa com base em informações e padrões de forma a superar as limitações existentes no processo manual (SOLOMON; BRECKON, 2000). Assim, o desenvolvimento de novas ferramentas computacionais para o auxílio na identificação de lesões pré-câncer orais torna-se relevante.

## 1.2 Objetivos e Desafios da Pesquisa

O objetivo deste trabalho é o desenvolvimento de algoritmos computacionais que permitam segmentar e analisar os diferentes níveis de displasia presentes em tecidos histológicos. Para tanto, as etapas exploradas nessa pesquisa foram:

- a) segmentação dos núcleos celulares presentes na camada epitelial com objetivo de identificar essas estruturas para análise morfológica e não morfológica;
- b) exploração e comparação entre os núcleos presentes em diferentes lâminas para identificar quais métricas são importantes no momento da caracterização da lesão entre os diferentes graus existentes;
- c) classificação dos tecidos analisados entre as classes de tecido saudável, displasia leve, displasia moderada e displasia severa;
- d) validação dos resultados obtidos através de métricas estatísticas e pela comparação com regiões e elementos identificados manualmente por um patologista;
- e) comparação entre os resultados obtidos e resultados de trabalhos desenvolvidos em contexto de câncer oral.

## 1.3 Hipótese

Na área do estudo e tratamento de lesões pré-câncer, uma questão em aberto é: técnicas computacionais podem fornecer informações que classifiquem os graus de displasia,

possibilitando trazer contribuições para o processo de diagnóstico de câncer realizado por patologistas?

Buscando responder essa questão, este trabalho foi desenvolvido com base na hipótese de que o emprego de técnicas de processamento de imagens permite a identificação de padrões relevantes para determinar a presença e o nível de displasias.

A questão secundária a ser respondida é: qual método pode ser aplicado para se obter e analisar essas características?

## 1.4 Contribuições

As contribuições que este trabalho apresenta são:

- a) criação de uma base de dados com 296 imagens de lâminas histológicas de displasias orais. As estruturas celulares dessas imagens foram marcadas manualmente por um patologista;
- b) desenvolvimento de um método para segmentação de núcleos displásicos presentes em imagens histológicas de displasia;
- c) estudo de características morfológicas e não morfológicas significativas para diagnóstico da lesão;
- d) análise de um método para classificação automática de imagens saudáveis e displásicas.

## 1.5 Organização da Dissertação ou Tese

Este capítulo apresentou de forma sucinta os objetivos da metodologia proposta e a motivação para o desenvolvimento deste trabalho. Os próximos capítulos deste trabalho são organizados da seguinte maneira:

- ❑ **Capítulo 2 - Fundamentação Teórica:** apresenta conceitos de lesões pré-câncer e displasias, e conceitos de processamento de imagens importantes para compreender este trabalho;
- ❑ **Capítulo 3 - Processamento de Imagens Histológicas Orais: Estado da Arte:** apresenta o estado da arte para processamento digital de imagens de câncer oral. São detalhados trabalhos focados em processamento de imagens de lesões cancerosas da região da boca;
- ❑ **Capítulo 4 - Metodologia:** apresenta o processo de criação do banco de imagens utilizado no trabalho, descreve as técnicas empregadas nas etapas de segmentação, pós processamento, extração de características e classificação, bem como as métricas utilizadas para a avaliação do método;

- **Capítulo 5 - Experimentos e Análise dos Resultados:** são apresentados os resultados obtidos em cada etapa da metodologia, resultados quantitativos em relação ao padrão-ouro e resultados obtidos por outros métodos presentes da literatura. São apresentadas discussões e comparações entre o método proposto e os demais;
- **Capítulo 6 - Conclusão:** apresenta as conclusões do trabalho, seu potencial, suas limitações e trabalhos futuros.



# CAPÍTULO 2

---

## Fundamentação Teórica

Nesta seção, serão introduzidos os conceitos teóricos relacionados às principais etapas deste trabalho. Dentre os assuntos, tem-se: Câncer, Imagens Histológicas, Displasia, Processamento de Imagens Histológicas, Redes Neurais Convolucionais e Operações Morfológicas.

### 2.1 Câncer

O câncer é uma desordem genética causada por mutações no DNA, podendo ser adquiridos espontaneamente ou devido a fatores do ambiente. Essas mutações são hereditárias e passadas para as células-filhas. Assim, essas células com mutações estão sujeitas à seleção natural, ou seja, vantagens de crescimento e sobrevivência, podendo dominar a população celular. Algumas das características que o câncer possui são: (1) crescimento autônomo e não regulado, (2) potencial replicativo ilimitado, (3) sobrevivência em condições onde células normais não sobrevivem, (4) capacidade de invadir tecidos locais, (5) disseminar-se para locais distantes e (6) resistência ao sistema imune do corpo (KUMAR; ABBAS; ASTER, 2013).

As anormalidades malignas podem apresentar diversas características semelhantes às células normais, mas também informações com representações diferentes. O baixo nível de semelhança das células anaplásicas, incluindo variações no tamanho, forma e coloração, é uma característica de malignidade (KUMAR; ASTER; ABBAS, 2010). O câncer também apresenta rápido crescimento, de maneira proporcional ao grau de alterações sofridas pelas estruturas celulares. Além disso, o câncer é um tipo de lesão invasiva que infiltra e destrói tecidos adjacentes num curto intervalo de tempo, ou seja, em poucas semanas tem um alto índice de manifestação. Assim, em uma intervenção cirúrgica, é necessário remover regiões próximas à lesão, de forma a garantir que o tumor não volte a se manifestar (KUMAR; ABBAS; ASTER, 2013).

## 2.2 Lesões pré-cancerosas

São denominadas pré-câncer as anormalidades benignas que apresentam potencial maligno de tal forma que podem evoluir para um câncer (WARNAKULASURIYA et al., 2008). É importante notar que a maioria das lesões desse tipo não evolui para câncer naturalmente, mas, por estimularem a proliferação regenerativa e exporem as células a condições que podem ocasionar inflamações, aumentam as chances da evolução para lesões malignas. Em lesões pré-cancerosas, geralmente há grande similaridade entre células doentes e saudáveis, sua taxa de crescimento é reduzida, podendo levar anos para ocorrer uma transformação mais severa e raramente possui evolução invasiva, mantendo-se encapsulada no local onde surgiu, com exceção de casos em que fatores externos podem induzi-las a transformações malignas (KUMAR; ASTER; ABBAS, 2010).

Entre as lesões pré-câncer mais importantes estão as metaplasias, hiperplasias, e displasias. Metaplasias são reprogramações em que uma célula sensível a um determinado tipo de estresse é substituída por outro tipo celular com maior capacidade de resistir ao ambiente hostil. Embora essa definição indique uma vantagem ao corpo humano, mecanismos de proteção importantes são perdidos, como por exemplo, a secreção de muco. Aliado a isso, se o estresse que causou o surgimento de metaplasia persistir, a lesão pode sofrer uma transformação maligna (KUMAR; ABBAS; ASTER, 2013).

A hiperplasia é definida como o aumento no número de células existentes em alguma estrutura corporal que ocorre de maneira natural e controlada no corpo. Um exemplo desse tipo de lesão é a proliferação epitelial mamária que ocorre na puberdade. Porém, quando hiperplasias não são reguladas pelo corpo, podem se tornar massas celulares anormais com potencial maligno para evoluir para câncer (ROHATGI et al., 2005).

As displasias são alterações na estrutura morfológica das células, como o formato geométrico, tamanho e características internas da pigmentação. Elas geralmente surgem na camada epitelial e apresentam baixa malignidade, mas expostas a fatores externos, sua chance de evoluir para câncer é potencializada (MEHANNA et al., 2009). No processo de diagnóstico de displasias, lesões de mesmo tamanho podem ser classificadas em graus diferentes pelo especialista, tornando o diagnóstico subjetivo (WARNAKULASURIYA et al., 2008). Dessa forma, é necessária a investigação de fatores quantitativos que sejam adequados para a caracterização dessas lesões, de maneira que o diagnóstico seja realizado de maneira correta e não subjetiva.

## 2.3 Displasia

Geralmente encontrada em tecidos epiteliais, a displasia é um tipo de lesão caracterizada como um conjunto de alterações celulares como: crescimento anormal e deformações na estrutura do núcleo, perda de uniformidade celular, hiperchromasia e deformações no

tecido epitelial (KUMAR; ASTER; ABBAS, 2010). Essas lesões são classificadas em leve, moderada ou severa, dependendo do quanto da camada epitelial apresenta alterações e da intensidade dessas alterações (SMITH et al., 2009; FONSECA-SILVA et al., 2016).

As displasias leves são definidas por alterações celulares pouco intensas ocupando apenas um terço da camada epitelial. Já o reconhecimento de displasias moderadas se inicia com alterações em metade do epitélio e, após isso, a intensidade das alterações é avaliada para classificar a lesão, podendo ser marcada como leve, mesmo apresentando área de alteração maior do que um terço do epitélio, ou como severa, mesmo não apresentando alterações na parte superior da camada (WARNAKULASURIYA et al., 2008). Por fim, as displasias severas são identificadas por alterações em mais de dois terços do epitélio, apresentando grande quantidade de células com alterações intensas (WARNAKULASURIYA et al., 2008). Na Figura 1 é apresentado um exemplo de amostras de tecidos saudáveis e com os diferentes graus de severidade de displasia, onde as setas em cor vermelha indicam núcleos e as setas em cor azul indicam o tecido epitelial.

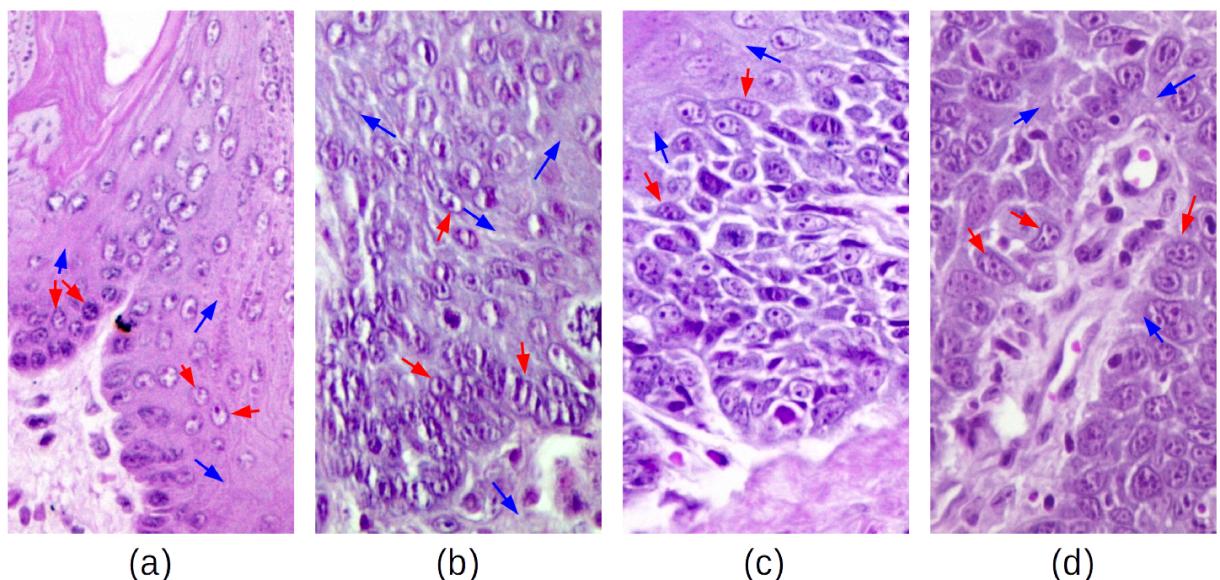


Figura 1 – Exemplos de tecidos histológicos orais: (a) tecido saudável, (b) displasia leve, (c) displasia moderada e (d) displasia severa. As setas em cor vermelha indicam núcleos celulares e as setas em cor azul indicam o epitélio.

As displasias apresentam entre 6% e 36% de chances de evoluírem para câncer (SMITH et al., 2009). O álcool e o tabaco contribuem para a evolução das displasias bucais. De acordo com (INCA, 2017), o risco de desenvolvimento de câncer oral atribuído ao uso dessas substâncias é de 65%. Essas lesões podem evoluir para o câncer de células escamosas, que apresenta uma taxa de mortalidade próxima a 50%. Então, a identificação precoce e caracterização da severidade destas lesões tornam-se muito importantes para a saúde do paciente (KUMAR; ASTER; ABBAS, 2010; INCA, 2017).

A severidade das alterações presentes na camada epitelial é um fator importante da classificação dessas lesões, conforme definido pela Organização Mundial de Saúde (SMITH

et al., 2009). Mas lesões de mesmo tamanho podem ser classificadas em graus diferentes pelo especialista, tornando o diagnóstico subjetivo. Além disso, a falta de guias bem definidas para caracterização pode levar ao diagnóstico inconsistente (WARNAKULASURIYA et al., 2008; SMITH et al., 2009). Apesar desses problemas, a análise histológica de tecido tem se mostrado como uma das melhores formas de caracterização dos níveis de displasia (FONSECA-SILVA et al., 2016). No entanto, fatores como nível de carga de trabalho e subjetividade podem comprometer a análise dessas estruturas.

## 2.4 Histologia

A histologia é o estudo dos tecidos e células, as funções dessas estruturas e como elas são organizadas para formar os órgãos, além da investigação do tamanho das dimensões das células com uso de microscópio (GARTNER, 2007; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

### 2.4.1 Preparação dos tecidos

Para que o microscópio possa analisar uma imagem do tecido, é necessário que o material seja fatiado em secções chamadas de *cortes histológicos*, as quais serão empregadas na obtenção de lâminas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013). Além disso, é necessário que os tecidos mantenham um aspecto similar ao seu estado natural (*in vivo*) (GARTNER, 2007). A seguir, estão descritas as etapas que compõem o processo de obtenção das lâminas histológicas, de acordo com os autores em (JOHNSON, 1991; GARTNER, 2007; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013):

- a) **fixação:** Após serem removidos do corpo através de uma operação cirúrgica, os tecidos são imersos em soluções químicas com o objetivo de retardar a digestão dos mesmos por enzimas existentes nas células, enrijecer o material e preservar sua estrutura e composição molecular;
- b) **desidratação e diafanização:** Para que os tecidos possam ser aplicados a um meio apropriado para seccioná-los, é necessário que os mesmos sejam desidratados, pois a maioria dos materiais utilizados na inclusão não se misturam à água presente nos tecidos. Para tal, o material é banhado sucessivamente em álcool, iniciando o processo com concentração de 50% e finalizando com concentração de 100% de álcool. Como o álcool não se dilui com parafina, o tecido é banhado em xanol por diversas vezes até que esse material retire completamente o álcool do tecido. Nesse processo, o tecido se torna transparente;
- c) **inclusão:** Com objetivo de distinguir os componentes que constituem o tecido, é necessário que o mesmo seja enrijecido e seccionado em cortes finos. Para tal, o espécime é inserido em um recipiente contendo parafina derretida que preenche

todo o espaço do tecido. Em seguida, ele é retirado do recipiente e a parafina se enrijece, formando um bloco que conserva o tecido;

- d) **microtomia:** Essa etapa consiste no corte do bloco em seções uniformes com o auxílio de um micrótomo. Esse equipamento tem uma lâmina e um braço que avança o bloco em intervalos iguais, permitindo cortes com espessuras uniformes e finas, geralmente entre 1 a 10 micrômetros. Após isso, os cortes são colocados sobre lâminas de vidro para, posteriormente, serem corados;
- e) **montagem e coloração:** Como, nesse ponto, os tecidos estão transparentes, eles são tratados com corantes que diferenciam os elementos básicos e ácidos das células. Geralmente, os corantes Hematoxilina e Eosina (H&E) são os mais utilizados. A eosina cora o citoplasma e o colágeno em cor de rosa, enquanto a hematoxilina cora os núcleos celulares e outros componentes ácidos de roxo ou azul. Ao fim da coloração, uma lâmina de vidro é posicionada acima do corte de tecido com a finalidade de protegê-lo durante a manipulação por especialistas para a visualização pelo microscópio.

## 2.5 Digitalização de imagens histológicas

Os tecidos são digitalizados com o uso de microscópios equipados com câmeras para aquisição de imagens desses tecidos. Essas imagens são armazenadas em arquivos padrão TIFF e com quantização de 8 bits no modelo de cores Vermelho, Verde e Azul (do inglês: *Red, Green and Blue (RGB)*) (BELSARE; MUSHRIF, 2012). Essas imagens histológicas digitalizadas são utilizadas para análise pelos especialistas, permitindo o emprego de técnicas de processamento de imagens para auxiliar esses profissionais numa avaliação das possíveis anormalidades presentes no tecido (GARTNER, 2007). O uso desse tipo de técnica permite a análise de grande número de imagens histológicas de maneira automática, rápida e precisa (KRISHNAN et al., 2011; BOROVEC, 2013).

## 2.6 Processamento de imagens histológicas

O processamento de imagens histológicas promoveu grande avanço na análise de imagens, sendo que muitas técnicas são estudadas e desenvolvidas com o intuito de melhorar todo o processo de identificação de anomalias (IRSHAD et al., 2014). Com uso dessas técnicas, problemas no diagnóstico causados por ruídos, manchas de pigmentação e divergência na análise realizada por diferentes patologistas podem ser minimizadas (KRISHNAN et al., 2011). As etapas comumente empregadas são pré-processamento, segmentação, pós-processamento, extração de características e classificação.

O pré-processamento é utilizado para preparar a imagem para as operações de segmentação e análise. A função é a eliminação de ruídos e variações de pigmentação, realce de

objetos, realce de contraste, entre outras operações (GONZALEZ; WOODS, 2010). Geralmente, nessa etapa, são empregados algoritmos para normalização de corantes, filtros para eliminação de ruídos e operações de borramento com objetivo de realçar estruturas (SOLOMON; BRECKON, 2000).

A etapa de segmentação é o processo de divisão da imagem em regiões ou objetos exclusivos entre si, com objetivo de associá-los a rótulos (SOLOMON; BRECKON, 2000). Os métodos mais comuns para segmentação de estruturas nucleares em histopatologia se baseiam em limiarização e operações morfológicas (IRSHAD et al., 2014). Como a precisão da segmentação pode influenciar no sucesso da análise, é necessário cuidado para que o resultado da técnica aplicada seja preciso (GONZALEZ; WOODS, 2010). Os métodos mais comuns desse procedimento se baseiam em duas categorias: descontinuidade e similaridade. A primeira categoria tem como base a detecção de variações bruscas na intensidade de grupos de *pixels* a fim de delimitar fronteiras entre regiões. Já na segunda, o objetivo é dividir a imagem em regiões que, de acordo com critérios predefinidos, possuam características semelhantes (GONZALEZ; WOODS, 2010).

Um método de segmentação baseado em limiarização comumente utilizado é o *Otsu*, que calcula o valor de limiar de maneira a maximizar a variância entre classes ao mesmo tempo que minimiza a variância interna das mesmas, permitindo uma separação das regiões (GONZALEZ; WOODS, 2010). Outro método utilizado é o *K-means* que é composto por três passos. No primeiro passo, o algoritmo define um número de regiões aleatoriamente, no segundo passo, os *pixels* similares ao centroide de cada região são atribuídos à essa região. No terceiro passo, o centroide de cada região é recalculado. Esses passos se repetem até que não haja mudanças nos *pixels* das regiões (IRSHAD et al., 2014). Também podem ser utilizados métodos de aprendizado de máquina para segmentar imagens (HE et al., 2017). Esses métodos geralmente utilizam um processo chamado de segmentação semântica. Esse tipo de segmentação gera uma máscara com o mesmo tamanho da imagem original em que cada posição  $(x, y)$  da imagem contém a classe ao qual o pixel pode ser atribuído.

O pós-processamento é necessário para refinar o resultado da segmentação, realçando a informação a ser extraída de maneira a aproximar as informações obtidas na fase de segmentação daquela obtida pelo especialista (SOLOMON; BRECKON, 2000; JANSSENS et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2013). Para isto, operações morfológicas são comumente utilizadas para remover pequenos objetos ou destacar regiões importantes para o processamento da imagem (BELSARE et al., 2016).

Após as etapas anteriores, o emprego da extração de características pode computar os atributos dos núcleos segmentados de maneira que anomalias possam ser identificadas (IRSHAD et al., 2014). Geralmente, são utilizadas características relacionadas à morfologia e textura dos núcleos (GONZALEZ; WOODS, 2010; IRSHAD et al., 2014). As características relativas aos núcleos celulares podem ser utilizadas para identificar o

surgimento de lesões e progressão de câncer (HANNEN et al., 1998; BEJNORDI et al., 2015). Por isso, a extração de características de imagens histológicas torna-se um importante aliado na tarefa de comparação quantitativa das estruturas celulares (KRISHNAN et al., 2010).

Finalmente, a tarefa de classificação tem como objetivo a identificação de estruturas, padrões ou propriedades de uma imagem para associá-la a uma classe predefinida (SOLOMON; BRECKON, 2000). Esse processo é realizado com a participação de um especialista, que, num estágio inicial, realiza a classificação manual de algumas imagens e define quais características podem ser utilizadas para definir se apresentam alguma doença. Posteriormente, as técnicas classificam o restante dos objetos de acordo com sua proximidade com as classes já definidas (SOLOMON; BRECKON, 2000; IRSHAD et al., 2014).

## 2.7 Redes Neurais Artificiais

As Redes Neurais Artificiais (RNA) são estruturas de aprendizado baseadas no cérebro humano, as quais fazem uso de uma dinâmica de conexões entre neurônios para gerar conhecimento sobre conjuntos de objetos (HAYKIN et al., 2009). Essas RNA simulam neurônios biológicos, os quais possuem quatro componentes principais definidos por dendritos, o corpo celular, os axônios e sinapses. Os dendritos são responsáveis por receber informações (estímulos) de outros neurônios e encaminhá-las para o corpo celular. O corpo do neurônio (chamado de soma) é responsável por processar as informações recebidas, gerando uma nova informação que será propagada. Já os axônios propagam a nova informação para outros neurônios por meio de conexões com dendritos, chamadas de sinapses (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013). Na Figura 2, é mostrado um exemplo de um neurônio biológico.

Os neurônios artificiais, que são parte da estrutura de uma RNA (ver Figura 3), são compostos de: (i) sinapses, que são responsáveis por transmitir as informações entre os neurônios, (ii) uma função para combinar as informações recebidas pelas sinapses, gerando uma nova informação e (iii) uma função de ativação, que transforma a informação produzida pelo neurônio em um valor finito para poder definir o quanto forte é o estímulo propagado (HAYKIN et al., 2009). Diversas funções de ativação podem ser empregadas, como a linear, a sigmóide e a Unidade Linear Retificada (do inglês: *Rectified Linear Unit* (ReLU)), que é abordada no capítulo 4.3. À cada sinapse, é atribuído um valor (peso), o qual é utilizado para medir a relevância dessa propagação de informação para o desempenho da rede (HAYKIN, 1994).

Essas redes possuem no mínimo duas camadas de neurônios, chamadas de camada de entrada e camada de classificação. A camada de entrada realiza o processamento nas informações do conjunto de dados, enquanto que a segunda tem a função de atribuir

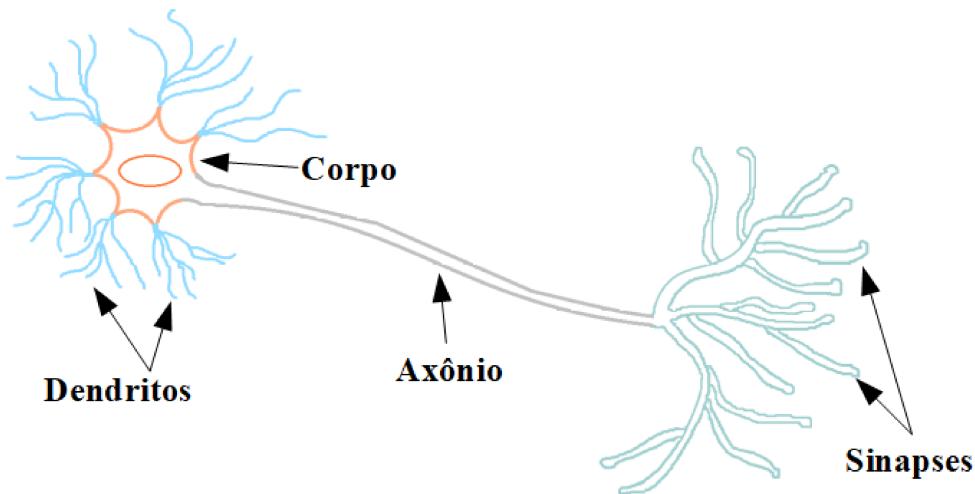


Figura 2 – Exemplo de um neurônio biológico das RNA.

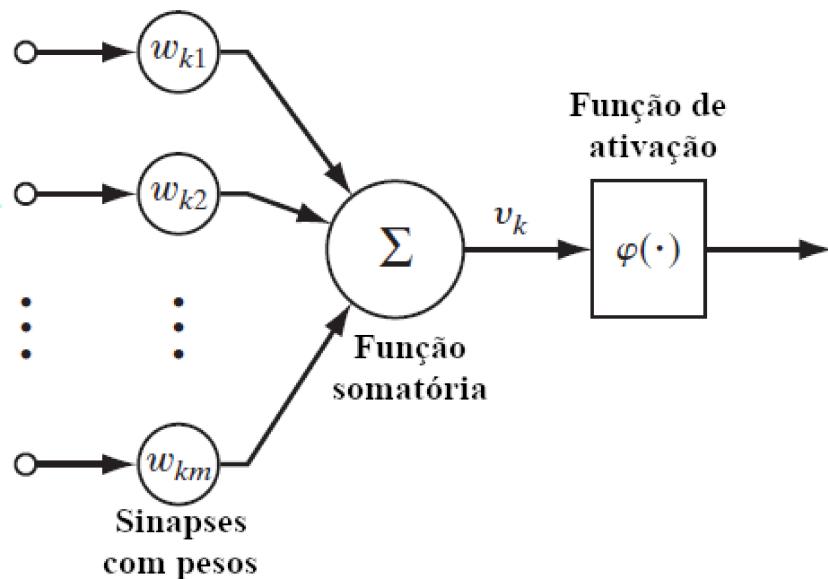


Figura 3 – Exemplo de um neurônio artificial. Imagem adaptada de (HAYKIN et al., 2009).

classes aos dados processados de acordo com padrões de características previamente conhecidos. Em RNA, podem existir outras camadas entre a entrada e a classificação, que são chamadas de intermediárias (HAYKIN, 1994).

Para que a rede possa aprender os padrões de características do conjunto de dados, a rede passa por uma etapa denominada treinamento. Nessa etapa, o conjunto de dados é enviado para todos os neurônios da rede e a taxa de acerto é calculada. Esse procedimento recebe o nome de *epoch*. Após isso, os dados são, novamente, repassados pela rede e os pesos de cada sinapse são modificados (aumentando ou reduzindo) com o objetivo de melhorar a taxa de acerto. As *epochs* são realizadas até que se obtenha um valor

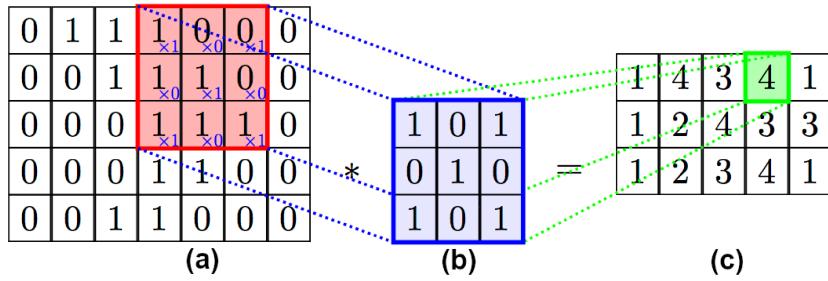


Figura 4 – Exemplo de uma operação de convolução: (a) uma imagem de tamanho  $7 \times 5$ , (b) um filtro de convolução de tamanho  $3 \times 3$  e (c) uma matriz de características resultante.

predefinido de taxa de acerto ou até que um determinado número de execuções sejam realizadas (HAYKIN, 1994; HAYKIN et al., 2009). Um método que pode ser utilizado para reduzir o *overfitting* durante o treinamento é o *dropout*. Nesse método, para cada iteração, um conjunto aleatório de neurônios é eliminado da rede e restaurado após o fim da iteração, apresentando diferentes combinações de neurônios ao longo do processo de treinamento. Dessa maneira, ruídos podem surgir durante o treinamento, forçando a rede a aprender características mais robustas para o conjunto de dados (HAYKIN, 1994).

## 2.8 Redes Neurais Convolucionais

As Redes Neurais Convolucionais (RNC), introduzidas por (CUN et al., 1989), são denominados modelos de rede que utilizam convoluções como etapa para transformar e reduzir as dimensões de imagens sem perder características importantes para uma representação significativa (GOODFELLOW; BENGIO; COURVILLE, 2016).

Para realizar essa operação, filtros convolucionais de tamanho predefinido são deslocados sobre todas as camadas de uma imagem de tamanho  $x \times y \times z$ . Em cada passo de deslocamento, os elementos do filtro são multiplicados pelos elementos sobrepostos em cada camada da imagem e os resultados somados para gerar um novo valor que representa aquela região. Como resultado desse processo, um mapa de características bidimensional é gerado para cada filtro utilizado durante a operação. Esses mapas podem apresentar uma redução nas dimensões  $x$  e  $y$  em comparação com a imagem original, mas todos os mapas gerados possuem o mesmo tamanho (GOODFELLOW; BENGIO; COURVILLE, 2016). Um exemplo dessa etapa é exibido na Figura 4.

O tamanho das dimensões  $x$  e  $y$  do mapa de características é controlado pelo filtro convolucional e o número de linhas e colunas deslocadas a cada passo. Quanto maior o filtro, menos deslocamentos podem ser realizados pela imagem e quanto maior o número de colunas e linhas deslocadas em cada passo, menos passos são realizados. O tamanho da dimensão  $z$  é equivalente ao número de filtros utilizados nas operações convolucionais, visto que cada camada do mapa é gerada por um filtro convolucional (ARAÚJO, 2018).

As camadas das redes convolucionais apresentam uma quantidade predefinida de filtros a serem aplicados nas matrizes de características. As convoluções contidas nas primeiras camadas trazem informações de baixo nível, como bordas, cor e gradiente. À medida que mais camadas são adicionadas, a rede pode conseguir obter informações de alto nível. Cada filtro calcula características diferentes. Sendo assim, quanto mais filtros são utilizados em cada camada, maior é o número de características obtidas (GOODFELLOW; BENGIO; COURVILLE, 2016; ARAÚJO, 2018).

Em algumas RNC, é necessário diminuir as dimensões do mapa de atributos de maneira a manter suas informações relevantes. Esse processo é realizado por meio das operações de *pooling*, que dividem o mapa de atributos em um número  $2n$  de regiões e extrai valores dessas regiões, criando um novo mapa de atributos de tamanho  $n \times n$ , conforme ilustrado nas Figuras 5 e 6. As duas operações de *pooling* comumente utilizadas são: *max-pooling* e *average-pooling* (GOODFELLOW; BENGIO; COURVILLE, 2016).

A operação de *max-pooling* divide o mapa de características em regiões e mapeia o maior valor presente em cada região para um novo mapa (ARAÚJO, 2018). Essa operação é apresentada na Figura 5, em que um mapa de tamanho  $4 \times 4$  é dividido em 4 regiões e o maior valor de cada região é empregado no novo mapa de tamanho  $2 \times 2$ . Nesse exemplo, tem-se  $n = 2$ , logo a matriz é dividida em 4 regiões e o mapa resultante possui tamanho  $2 \times 2$ . Os maiores valores de cada região são passados para o novo mapa.

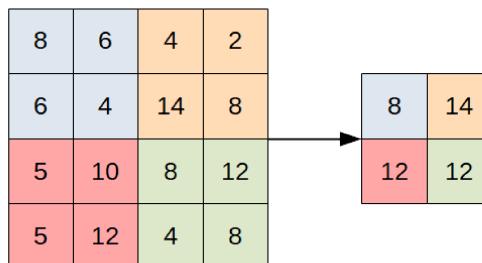


Figura 5 – Ilustração da operação de *max-pooling* em uma matriz de tamanho  $4 \times 4$ .

Na fase de *average-pooling*, o mapa é dividido em um número de regiões e calcula-se a média dos valores de cada região para gerar os valores para o mapa resultante (GOODFELLOW; BENGIO; COURVILLE, 2016). Na Figura 6, é apresentado um exemplo da aplicação dessa operação em um mapa de tamanho  $4 \times 4$  que retorna um mapa de atributos de tamanho  $2 \times 2$ .

Por fim, as RNC apresentam camadas totalmente conectadas para classificar os objetos em classes pré-determinadas. As redes são denominadas totalmente conectadas quando todos os neurônios de uma camada estão conectados com todos os neurônios da camada seguinte. Em geral, na última camada, emprega-se a função de ativação *softmax*. Essa função tem como entrada os neurônios da camada anterior e permite calcular a probabilidade de uma imagem pertencer a cada uma das classes predefinidas durante o treinamento da RNC (GOODFELLOW; BENGIO; COURVILLE, 2016; HE et al., 2016).

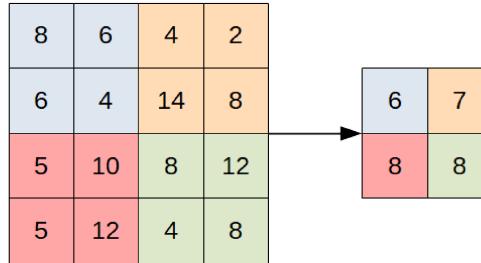


Figura 6 – Exemplo da aplicação de *average-pooling* em um mapa de tamanho  $4 \times 4$ .

As arquiteturas RNC mais comuns para segmentação de imagens são a *LeNet*, *U-net*, *V-net*, ResNet e *Mask R-CNN*. A *LeNet* utiliza convoluções para extrair características de bordas de objetos para reconhecimento de dígitos (MATAN et al., 1992). A arquitetura *U-net* utiliza convoluções com filtros de diferentes tamanho para extrair informações de alto nível das imagens (RONNEBERGER; FISCHER; BROX, 2015). O modelo *V-net* emprega uma arquitetura similar à *U-net* para segmentar imagens médicas volumétricas (MILLETARI; NAVAB; AHMADI, 2016). O modelo ResNet utiliza um mapeamento residual para minimizar a degradação de acurácia durante o treino. Já a *Mask R-CNN* (HE et al., 2017) utiliza uma arquitetura baseada em regiões e comparação de objetos identificados com uma máscara binária para refinar os resultados de classificação a cada *epoch* do treinamento. A arquitetura e o funcionamento dos modelos ResNet e *Mask R-CNN* são explicados em detalhes no Capítulo 4.

## 2.9 Operações Morfológicas

As operações morfológicas podem ser aplicadas em diversas categorias de imagens, mas seu uso principal ocorre em imagens binárias, ou seja, imagens compostas por *pixels* brancos e pretos. As operações funcionam com o mapeamento de um elemento estruturante A em uma imagem B, sendo o elemento estruturante uma região binária com definição prévia de tamanho e distribuição dos elementos. A aplicação do elemento estruturante acontece pelo seu deslocamento na imagem. As principais operações morfológicas são a dilatação e a erosão (SOLOMON; BRECKON, 2000; GONZALEZ; WOODS, 2010).

A operação de dilatação entre os conjuntos A e B é definida pela operação de adição de Minkowski (SOLOMON; BRECKON, 2000; GONZALEZ; WOODS, 2010) dada por:

$$A \oplus B = \{z | (\hat{B})_z \cap A \neq \emptyset\}, \quad (1)$$

em que  $(\hat{B})_z$  representa a reflexão de B com relação à origem, seguida da translação por  $z$ . A intersecção é a operação de elementos comuns entre a imagem e o elemento estruturante. O elemento estruturante é deslocado pela imagem verificando a sobreposição de seu *pixel* de origem sobre um *pixel* da imagem. Caso o pixel tenha valor 1, a imagem é preenchida nessa região pelo elemento estruturante. Caso o valor do pixel seja 0, a imagem não é alterada. Um exemplo da operação de dilatação pode ser vista na Figura 7.

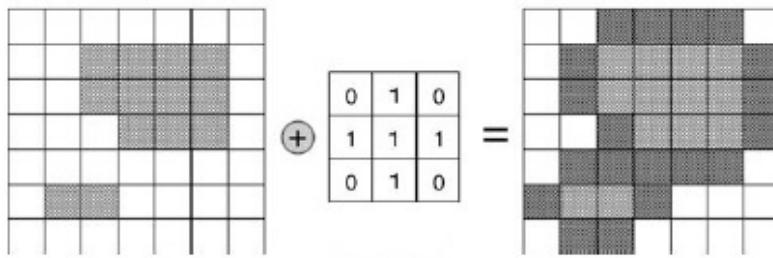


Figura 7 – Exemplo da aplicação de uma operação de dilatação em que um elemento estruturante de tamanho  $3 \times 3$  empregado em uma imagem binária. Imagem retirada de (SOLOMON; BRECKON, 2000).

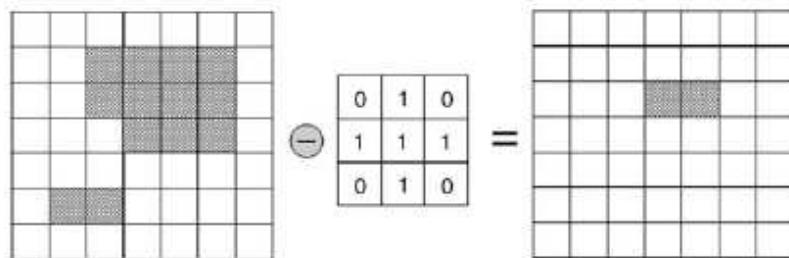


Figura 8 – Exemplo da aplicação de uma operação de erosão sobre uma imagem binária. Imagem retirada de (SOLOMON; BRECKON, 2000).

A operação de erosão entre uma imagem A e um elemento estruturante B é definida pela operação de subtração Minkowski, expressa por (SOLOMON; BRECKON, 2000; GONZALEZ; WOODS, 2010):

$$A \ominus B = \{z | (B)_z \cap A^c = \emptyset\}, \quad (2)$$

onde  $A^c$  representa o complemento do conjunto A. A erosão é realizada considerando a translação do elemento estruturante sobre a imagem. Dessa forma, quando há o deslocamento, é necessário verificar se todos os elementos estruturantes estão contidos na região do objeto. Caso isso ocorra, os elementos presentes na imagem que coincidam com o elemento estruturante são apagados e apenas a origem do elemento é mantida. Um exemplo da aplicação de erosão pode ser visto na Figura 8. Um elemento estruturante de tamanho  $3 \times 3$  em forma de cruz é aplicado sobre uma imagem e, quando o elemento está contido dentro da imagem, a origem é mantida e o restante dos elementos é apagado.

# CAPÍTULO 3

## Processamento de Imagens Histológicas Orais: Estado da Arte

Neste capítulo, são descritos metodologias e algoritmos aplicados em lesões malignas e de câncer da cavidade bucal, além dos principais estudos que se relacionam ao trabalho proposto.

### 3.1 Levantamento do Estado da Arte

A análise dos tecidos histológicos é um dos meios mais confiáveis para a identificação de doenças e anomalias. Dentro da área de saúde oral, lesões denominadas pré-câncer são investigadas para elucidar as características e anomalias que contribuem de forma significativa no desenvolvimento de patologias. A seguir, são apresentados trabalhos relacionados a processamento de imagens histológicas de lesões cancerígenas.

O trabalho de (KRISHNAN et al., 2009) propôs um método para classificação automatizada de células de tecidos com Fibrose Submucosa Oral (FSO). A segmentação das células do tecido conjuntivo foi realizada por meio da limiarização dos níveis de baixa intensidades das imagens. A limiarização foi escolhida após a observação dos histogramas em escala de cinza, em que células concentram-se na extremidade inferior do nível de intensidade. No passo seguinte, as características de área, perímetro, compacidade e excentricidade foram extraídas para classificar células de acordo com seu formato geométrico. Na etapa de classificação, 2894 células foram, manualmente, identificadas e classificadas por dois especialistas de forma independente. O classificador *Support Vector Machines* (SVM) foi empregado utilizando 1054 células para o conjunto de treinamento e 1840 células para o conjunto de teste. O processo de treinamento foi realizado com validação cruzada para controlar erros de classificação. Nesse estudo, um banco de imagens composto por 20 imagens, totalizando 730 células de amostras normais e 1110 células de FSO foram empregados na fase de teste. O método proposto obteve sensibilidade de 90,47%, especificidade de 87,54% e acurácia de 88,69%.

Em (KRISHNAN et al., 2010), os autores propuseram um método para classificação automatizada de células de tecido conjuntivo de mucosas orais sem lesões. As imagens foram pré-processadas com o uso da técnica de filtro de mediana para eliminar ruídos de alta e baixa intensidades e preservar detalhes das bordas (SOLOMON; BRECKON, 2000). Para a segmentação, uma técnica de deconvolução de cores foi utilizada para transformar a imagem no plano de H&E de forma a realçar o contraste entre núcleos e região de citoplasma. Essas células foram extraídas com o uso de uma limiarização com o método de Otsu. Na etapa de pós-processamento, as operações de reconstrução morfológica foram utilizadas para remover fragmentos de células remanescentes. As características como área, perímetro, compacidade, momentos de Zernike e descritores Fourier foram extraídas para analisar o formato das células. Essas características foram empregadas no classificador bayesiano, o qual foi empregado para avaliação de um conjunto de 716 células segmentadas, sendo 60% dos dados (431 células) utilizadas para treinamento e 40% (285 células) para teste. A avaliação de desempenho do classificador foi realizada por meio da divisão entre as células corretamente classificadas e o total de células presentes nas imagens. A acurácia obtida com uso dessa metodologia foi de 97,19%.

Os autores (KRISHNAN et al., 2011) propuseram um método para classificação de FSO baseado em informações de textura. Nesse estudo, foram utilizadas 158 imagens, sendo 90 de tecidos normais, 42 de FSO sem displasia e 26 de FSO com displasia. A metodologia apresentada em (KRISHNAN et al., 2011) foi empregada para realizar a etapa de segmentação da camada epitelial. Então, as características obtidas com dimensão fractal, padrões binários locais, curva do movimento Browniano, *wavelet* e *Gabor* foram extraídas das imagens. Na etapa de classificação, uma variação do classificador SVM, denominada *one-against-one SVM*, foi empregada para caracterizar as imagens entre saudáveis e FSO. Nesse trabalho, 67,1% dos dados foram utilizados para treinamento e 32,9% para a fase de teste. O sistema obteve acurácia de 91,67%, 85,71% e 87,76% na classificação de imagens normais, com FSO sem displasia e FSO com displasia, respectivamente. Isso proporcionou um resultado de acurácia média de 88,38%.

O trabalho proposto por (KRISHNAN et al., 2012) apresentou um método para identificação de FSO baseado em classificação de núcleos celulares. Na etapa de pré-processamento, o filtro de mediana foi aplicado para remover ruídos presentes na imagem. Na segmentação, a técnica de difusão anisotrópica foi empregada para suavizar o conteúdo da imagem e realçar as bordas. Após isso, a imagem foi convertida para escala de cinza e a limiarização baseada em divergência *fuzzy* foi aplicada para localizar a extremidade inferior da camada epitelial. Também foi empregada uma operação de ajuste de curvas para localizar a parte superior permitindo obter uma região de interesse. Para segmentar os núcleos presentes nessa região, uma operação de deconvolução de cores foi utilizada para realçar os núcleos, seguida do método *watershed*. Finalmente, o método de contorno ativo *GVF snakes* foi usado para refinar o resultado da segmentação, detectando as bordas

dos núcleos. Finalmente, as características de área, perímetro, excentricidade, diâmetro, descritores Fourier e momentos de Zernike foram utilizados como descritores das informações das regiões. Essas informações foram utilizadas nos classificadores: (i) bayesiano, (ii) SVM, (iii) *k-means*, (iv) *fuzzy c-means* e (v) *Gaussian Mixture Model Classifier* (GMM). Esse estudo utilizou 770 imagens de histologia oral, sendo 341 imagens normais e 429 com FSO. Os classificadores apresentaram resultados relevantes para o conjunto de imagens utilizado. O classificador bayesiano apresentou acurácia de 96,56%, especificidade de 96,62% e sensibilidade de 96,43%, e o SVM apresentou acurácia de 99,66%, especificidade de 99,53% e sensibilidade de 99,74%.

Em relação a lesões pré-cancerígenas, destaca-se o trabalho de (BAIK et al., 2014), que apresentou um método para identificar lesões com alto risco de evoluir para câncer invasivo. Em imagens com regiões de interesse definidas manualmente por patologistas, o classificador *Random Forests* foi utilizado para realizar a classificação dos objetos em (1) núcleos intactos e focados, (2) objetos sobrepostos e (3) objetos não utilizáveis. O grupo de treinamento foi composto de 8.072 núcleos intactos e 1.699 objetos sobrepostos divididos em 70% para treinamento, 20% para validação e 10% para teste. Com essas amostras, cinco classificadores binários foram treinados pelo uso de validação cruzada com 10 pastas, gerando um total de 500 *Random Forests*. Após essa etapa, um novo classificador foi empregado nos núcleos divididos em dois grupos: o primeiro contendo núcleos saudáveis e o segundo contendo núcleos anormais (cancerígenos). O sistema obteve uma acurácia de 80% na classificação dos núcleos celulares.

O trabalho de (BANERJEE et al., 2015) estudou o uso de biomarcadores como forma de diferenciação entre leucoplasia e câncer. Um conjunto de 47 imagens histológicas foi utilizado, sendo que biomarcadores de intervalo espectral infravermelho foram extraídos previamente dessas imagens. Nesse trabalho, 90% dos dados foram utilizados para treinar um algoritmo SVM com *kernel* linear e um SVM com *kernel* quadrático. Os resultados obtidos foram comparados ao padrão-ouro, com o SVM quadrático obtendo o valor de acurácia de 89,7% na diferenciação entre tecido normal e cancerígeno e 87,2% na diferenciação entre leucoplasia e câncer de células escamosas. Já o SVM linear apresentou acurácia de 82,1% na diferenciação entre tecido normal e cancerígeno e 79,5% na diferenciação entre leucoplasia e câncer de células escamosas. Os autores concluíram que características de intervalo espectral de infravermelho aliadas a técnicas computacionais de processamento de imagens possibilitaram a diferenciação entre leucoplasia e câncer de maneira não ambígua ou subjetiva. O trabalho de (DAS et al., 2015) apresentou um método para a detecção de queratinização como um meio de identificar câncer oral de células escamosas. Na etapa de pré-processamento, diversos modelos de cores foram analisados. Nesse passo, foi observado que o canal Db do modelo YDbDr apresentou maior contraste entre outros canais do modelo. Após isso, os valores de intensidades do canal Db foram normalizados. Para a fase de segmentação, a técnica *Active Contour Snake Model*

foi utilizada. Para a classificação, a quantidade de queratinização presente nas imagens histológicas foi calculada. Para isso, a quantidade de *pixels* nas regiões classificadas como queratinizadas foi dividida pela quantidade total de *pixels* de em toda área de tecido da imagem. As imagens que apresentaram porcentagem de queratinização maior do que 50% foram classificadas como Grau I, entre 20 - 50% como Grau II e 5 - 20% como Grau III. Para validar o método proposto, o coeficiente Jaccard foi empregado, onde foi realizada a comparação entre os *pixels* das imagens resultantes e o padrão-ouro. Esse método obteve acurácia de 95,08% na segmentação de áreas de queratinização.

O estudo de (CHOUDHURY et al., 2016) propôs uma comparação entre três algoritmos para classificar casos de câncer oral e de pulmão. Os classificadores *Multilayer Perceptron*, *Radial Basis Function Network* (RBFN) e *Simple Logistic* (SL) foram usados para realizar a classificação das imagens e o resultado foi comparado com o diagnóstico realizado por um patologista. O algoritmo *Multilayer Perceptron* obteve acurácia de 73,3% na classificação de câncer de pulmão e 99,82% para classificar câncer oral. O *RBFN* obteve acurácia de 60,0% para classificar câncer de pulmão e 93,46% na classificação de câncer oral. Já o *SL* apresentou acurácia de 59,67% para classificar as imagens de pulmão e de 99,78% para imagens orais. Esses métodos foram aplicados em um conjunto de dados com 524 imagens histológicas orais e 15 imagens de histológicas de pulmão.

Com o objetivo de segmentar regiões relevantes para o diagnóstico de câncer de células escamosas, o trabalho apresentado em (DAS et al., 2018) utilizou uma RNC com 12 camadas convolucionais para segmentar a camada epitelial dos tecidos. Uma vez esse tecido segmentado, o algoritmo *Random Forests* em conjunto com um filtro *Gabor* foi empregado para identificar as regiões queratinizadas. Este estudo utilizou um conjunto com 120 imagens de tecidos com câncer e 6 imagens saudáveis. Do número total de imagens, 80 foram segmentadas manualmente por um especialista e utilizadas na etapa de treinamento da rede. De cada imagem do treinamento, sub-regiões de  $7 \times 7$  *pixels* foram extraídas para gerar objetos de treinamento, totalizando um milhão de sub-regiões. O método apresentou valores de acurácia de 98,42% para a segmentação da camada epitelial e 98,05% para a segmentação das regiões queratinizadas.

Esses trabalhos são descritos na Tabela 1, onde são detalhadas as informações sobre os bancos de dados, etapas de pré-processamento, segmentação, pós-processamento, classificação e os resultados obtidos.

Tabela 1 – Trabalhos realizados na área de processamento de imagens histológicas relacionadas ao câncer oral

Ref. e Banco de Imagens	Objetos de interesse	Pré-processamento	Segmentação	Pós-processamento	Classificação	Resultados
(KRISHNAN et al., 2009) 10 imagens de tecido epitelial normal, totalizando 730 células normais; e 10 imagens de FSO, totalizando 1110 células.	Características malignas em células.	-	Segmentação via limiarização de histograma.	-	SVM	88,69% de acurácia pelo uso de cálculos estatísticos. Acurácia não validada por um profissional
(KRISHNAN et al., 2010) Imagens de tecido conectivo sub epitelial; quantidade não informada.	Células inflamatórias e fibroblastos.	Filtro de mediana.	Deconvolução de cores, <i>Otsu thresholding</i> e operações de reconstrução morfológica.	-	Classificador bayesiano.	Acurácia de 97,19% utilizando o método <i>t-test</i> .
(KRISHNAN et al., 2011) 90 imagens de tecido epitelial normal, 42 de FSO sem displasia e 26 de FSO com displasia	Camada epitelial	O canal L do modelo $L^*a^*b$ é submetido a um <i>wiener filter</i> com filtro de 5x5, filtro passa-baixa e, então, é convertido para escala de cinza.	Agrupamento de regiões com base em similaridade de textura.	-	SVM	Acurácia de 91,67%, 85,71% e 87,76% na classificação de núcleos normais, FSO sem displasia e FSO com displasia, respectivamente.
(KRISHNAN et al., 2012) 341 imagens de histologia saudáveis e doenças.	Núcleos celulares saudáveis e doenças.	Filtro de mediana	Realce de bordas com difusão anisotrópica, limiarização <i>fuzzy divergence</i> , <i>parabola fitting</i> , <i>watershed</i> , deconvolução de cores e GVF snakes.	-	Classificador bayesiano, SVM, <i>k-means clustering</i> , <i>fuzzy c-means</i> e GMM.	Acurácia de 99,6% com o SVM e 96,56% com o classificador bayesiano.

Ref. e Banco de Imagens	Objetos de interesse	Pré-processamento	Segmentação	Pós-processamento	Classificação	Resultados
(BAIK et al., 2014) 29 imagens de tecido normal, 33 de tecido cancerígeno, 4 de hiperplasia, 23 com displasia leve e 44 com displasia moderada. O total de núcleos analisados foi de 8.072	Camada epitelial	-	-	-	<i>Random Forests</i> utilizando: 5 <i>random forests</i> binárias para treino e e uma <i>random forest</i> para classificação dos núcleos.	85,4% de acurácia na classificação de objetos apropriados para análise e acurácia de 80,6% na classificação de câncer, quando comparado a classificação manual realizada por 2 técnicos.
(BANERJEE et al., 2015) 47 imagens de lâminas histológicas, sendo 8 normais, 16 com leucoplasia e 23 com Carcinoma de Células Escamosas.	Características malignas em imagens histológicas.	-	-	-	SVM linear; SVM quadrático em conjunto com 10-fold cross validation.	89,7% de acurácia na classificação entre tecido normal e cancerígeno; 87,2% de acurácia na diferenciação entre Leucoplasia e câncer de células escamosas.
(DAS et al., 2015) 90 imagens de carcinoma de células escamosas.	Regiões queratinizadas	Conversão para o plano YDbDr, <i>bit-plane slicing</i> no canal Db e normalização do canal Db com o bit mais significante gerado pelo <i>bit-plane slicing</i> .	<i>Active contour snake model</i>	-	Caracterização de carcinoma baseado na porcentagem de queratina presente na imagem.	Segmentação com acurácia de 95,08% comparado a avaliação realizada por 2 patologistas.

Ref. e Banco de Imagens	Objetos de interesse	Pré-processamento	Segmentação	Pós-processamento	Classificação	Resultados
(CHOWDHURY et al., 2016) 524 imagens histológicas orais e 15 imagens histológicas de pulmão.	Avaliação de métodos para diagnóstico de câncer.	-	-	-	<i>Multilayer Perceptron, SL e RBFN</i>	<i>Multilayer Perceptron</i> com acurácia de 99,82% para imagens orais e 73,3% para imagens de pulmão. <i>SL</i> com acurácia de 99,78% para imagens orais e 60,0% para imagens de pulmão. <i>RBFN</i> com acurácia de 93,46% para imagens orais e 59,67% para imagens de pulmão.
(DAS et al., 2018) 126 imagens histológicas orais, sendo 120 com câncer e 6 saudáveis.	Camada epitelial e região com concentração de queratina.	-	RNC com 12 camadas para segmentar a camada epitelial e <i>Random Forest</i> para segmentar regiões queratinizadas.	-	-	98,42% de acurácia na segmentação da camada epitelial e 98,05% de acurácia na segmentação de regiões queratinizadas.

### **3.2 Considerações finais**

No contexto de câncer oral, têm sido observadas diversas contribuições na identificação e caracterização de estruturas presentes em tecidos. Conforme observado em (BANERJEE et al., 2015) e (DAS et al., 2015), o uso de técnicas computacionais permite a análise quantitativa dessas estruturas de maneira não ambígua ou subjetiva. Entretanto, um fator ponderante não investigado nos estudos de (DAS et al., 2015) e (KRISHNAN et al., 2010) é que não há uma comparação com outros métodos de segmentação empregados em imagens histológicas.

Dos trabalhos apresentados na Tabela 1, apenas os estudos apresentados em (KRISHNAN et al., 2011), (KRISHNAN et al., 2011) e (BAIK et al., 2014) utilizaram tecidos displásicos em seus bancos de imagens. Nos estudos apresentados em (KRISHNAN et al., 2011) e (KRISHNAN et al., 2011), imagens com displasias foram utilizadas, mas o objetivo do estudo foi a identificação de FSO e a presença de displasias foi considerada como uma característica para identificação desse tipo de lesão. Dessa forma, esse estudo não apresentou investigação sobre características histológicas importantes para diagnóstico de lesões displásicas. Já o trabalho de (BAIK et al., 2014) utiliza imagens de displasia, hiperplasia e câncer com o objetivo de identificar lesões orais com potencial maligno. Embora a maior parte dos tecidos lesionados utilizados sejam de displasias, apenas as classes leve e moderada foram abordadas. Os demais trabalhos apresentados abordam lesões de câncer ou pré-câncer em estágio avançado. As displasias são diferentes desses tipos de lesões porque apresentam deformações em sua morfologia, coloração e podem ter o tecido conjuntivo invadido pelo tecido epitelial (KUMAR; ABBAS; ASTER, 2013). Assim, é necessária uma investigação de métodos que possam ser empregados levando em consideração essas características.

# CAPÍTULO 4

## Metodologia

### 4.1 Visão Geral da Metodologia

O sistema proposto para quantificação de casos de displasia abrange as seguintes etapas: segmentação, pós-processamento, extração de características e classificação. Na etapa de segmentação, a rede neural convolucional *Mask R-CNN* foi utilizada para a detecção dos núcleos presentes nas imagens. Na etapa de pós-processamento, operações morfológicas foram empregadas para eliminar falsos-positivo em regiões de presença de objetos. Então, foram obtidas as características de regiões segmentadas e um classificador foi empregado para quantificar as lesões das imagens. Na Figura 9, são ilustradas as principais etapas aplicadas para quantificação das displasias orais. O sistema foi desenvolvido utilizando as linguagens de programação Python para a etapa de segmentação e MatLab® nas etapas de pós-processamento, extração de características e classificação. Os experimentos foram conduzidos em um computador com processador AMD FX-8320, 8GB de memória RAM e GPU Nvidia GTX 1060 com 6GB de VRAM.

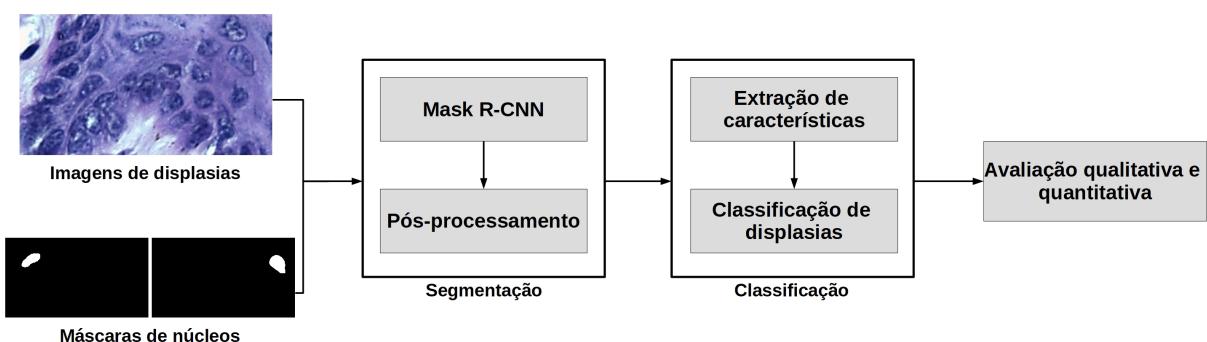


Figura 9 – Fluxograma das principais etapas empregadas na quantificação de displasia oral.

## 4.2 Construção do Banco de Imagens

Para este trabalho, um banco de imagens foi construído a partir de lâminas contendo lesões induzidas experimentalmente em língua de camundongos C57Bl/6 por meio do uso do carcinógeno 4NQO. O experimento *in vivo* foi devidamente aprovado pelo Comitê de Ética na Utilização de Animais sob número de protocolo 038/09 e realizado no período de 2009 a 2010, sendo utilizados nos trabalhos apresentados por (FARIA et al., 2011; SANT'ANA et al., 2011; MENDONÇA et al., 2012; SOUZA et al., 2014). Nesse protocolo de indução de lesões em língua de camundongos, foram usados 30 animais pesando entre 20-23g, de idade de 6 a 8 semanas e distribuídos de forma aleatória em dois subgrupos denominados de semana 16 e semana 32. Todos os camundongos foram colocados em gaiolas de plástico contendo serragem e mantidos à temperatura de 22° C, ciclo claro/escuro de 12h, no centro de Bioterismo da Universidade Federal de Uberlândia. O protocolo obedeceu os critérios estabelecidos por (TANG et al., 2004), como segue: o carcinógeno 4NQO foi previamente diluído em propilenoglicol na concentração de 5 mg/ml e depois em água filtrada até atingir a concentração final de 100 ug/ml. Os camundongos tiveram acesso a essa solução por 16 semanas interruptas, sendo que no grupo denominado de semana 16, os camundongos foram imediatamente sacrificados após o término do tratamento com o carcinógeno. No outro grupo, identificado como semana 32, os camundongos beberam somente água filtrada após o término do tratamento até o tempo de sacrifício, ou seja, 16 semanas depois. Após o sacrifício, as línguas foram removidas e colocadas em solução de formalina tamponada a 4% por 24 horas. Depois desse período, as línguas foram processadas e incluídas em parafina para confecção dos blocos, recortadas e coradas por H&E para estudo histopatológico. As lâminas foram classificadas em tecido saudável, displasias leve, displasia moderada e displasia severa, conforme descrito por (LUMERMAN; FREEDMAN; KERPEL, 1995).

As imagens histológicas digitais foram obtidas com o uso do microscópio óptico Leica DM500, em magnificação de 400x, e armazenadas em arquivos em formato TIFF, utilizando o modelo de cores RGB, com quantificação em 8 *bytes* e resolução de 2048 × 1536 *pixels*. Ao todo, 43 lâminas foram digitalizadas com a ajuda de um patologista, sendo catalogadas como tecidos saudáveis, displasia leve, moderada e severa. As imagens foram recortadas em regiões de interesse (do inglês: *Region of Interest* (ROI)) com tamanho de 450 × 250 *pixels*, sendo 74 ROI para cada classe de tecido, totalizando 296 ROI. Na Figura 10, um exemplo de cada tipo de tecido é apresentado. Para cada classe de tecido, 30 ROI foram selecionadas para a criação de imagens de referência, denominadas padrão-ouro. Os núcleos dessas imagens foram identificados e marcados manualmente pelo especialista, gerando máscaras binárias onde a região de núcleos é colorida com a cor branca e o fundo do tecido é marcado na cor preta.

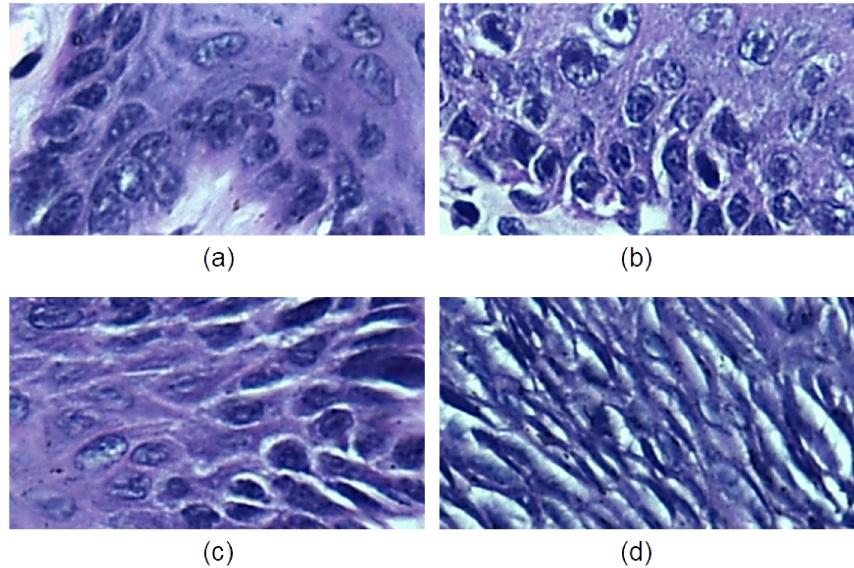


Figura 10 – Exemplo de tecido histológico da cavidade bucal: (a) saudável, (b) displasia leve, (c) displasia moderada e (d) displasia severa.

## 4.3 Segmentação

Na etapa de segmentação de núcleos displásicos, o método de segmentação semântica foi desenvolvido baseado no algoritmo de rede neural *Mask R-CNN* aplicado sobre a rede *ResNet50*.

### 4.3.1 ResNet50

Neste trabalho, a rede convolucional *ResNet50* (HE et al., 2016) foi utilizada como estrutura principal para o aprendizado de características de núcleos celulares. A arquitetura dessa rede pode ser vista na Figura 11.

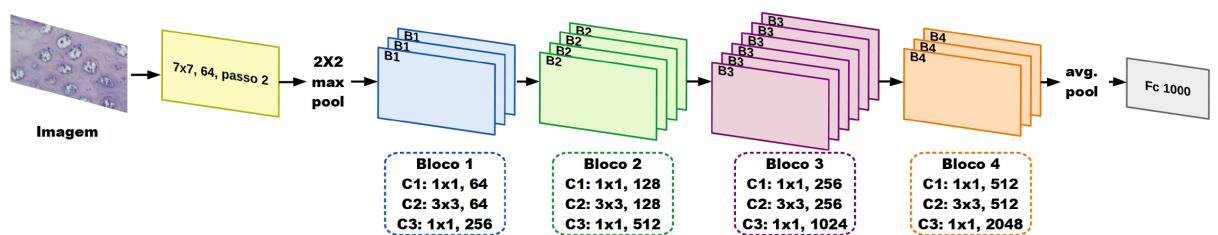


Figura 11 – Arquitetura da rede neural *ResNet50* empregada na etapa de segmentação dos núcleos do tecido histológico.

A arquitetura empregada é composta pela camada convolucional de entrada, 16 agrupamentos de camadas convolucionais (dispostos em forma de blocos 1, 2, 3 e 4) e uma camada de classificação. A camada de entrada contém 64 filtros convolucionais de tamanho  $7 \times 7$  pixels que operam sobre a imagem original utilizando uma janela deslizante com tamanho de deslocamento igual a 2 pixels. Em seguida, uma etapa de subamostragem, um filtro de *max pooling*, com tamanho  $3 \times 3$  pixels e tamanho de deslocamento igual a 2 pixels

é empregado. Após a operação de *max pooling*, o Bloco 1 (B1), que possui três camadas convolucionais é aplicado. A primeira camada desse bloco possui 64 filtros convolucionais de tamanho 1x1 *pixels*, a segunda camada possui 64 filtros de tamanho 3x3 *pixels* e a terceira camada possui 256 filtros de tamanho 1x1 *pixel*. Esse bloco tem três repetições, o que totaliza 9 camadas convolucionais.

Então, o Bloco 2 (B2), foi empregado no resultado do bloco B1. Esse bloco possui três camadas, a primeira camada contendo 128 filtros convolucionais de tamanho 1x1 *pixel*, a segunda camada possui 128 filtros de tamanho 3x3 *pixels* e a terceira camada possui 512 filtros de tamanho 1x1 *pixel*. Esse bloco se repete quatro vezes, totalizando 12 camadas convolucionais. Logo após, o Bloco 3 (B3), também com três camadas, é aplicado. A primeira camada possui 256 filtros de tamanho 1x1 *pixel*, a segunda composta por 256 filtros de tamanho 3x3 *pixels* e a terceira por 1024 filtros de tamanho 1x1 *pixel*. Esse bloco se repete seis vezes, apresentando no total 18 camadas. Em seguida, há uma transição para o Bloco 4 (B4), que tem três camadas, a primeira possuindo 512 filtros de tamanho 1x1 *pixel*, a segunda com 512 filtros de tamanho 3x3 *pixels* e a terceira camada possui 2048 filtros de tamanho 1x1 *pixel*. O bloco B4 aparece três vezes, totalizando 9 camadas. Então, na última camada, os dados são transformados em um vetor com uso de um filtro *average pooling*. Por fim, o vetor é empregado numa camada totalmente conectada possuindo 1000 neurônios com a função *softmax* para classificar os objetos entre as classes de núcleo ou região de fundo da imagem.

Na transição entre os blocos B1, B2, B3 e B4, o tamanho da matriz de características deve ser reduzido numa proporcionalidade de 2. Esse processo foi realizado empregando uma janela deslizante com tamanho de deslocamento igual a 2 *pixels* nas convoluções de transição. Um exemplo pode ser observado após os 256 filtros convolucionais do último B1, onde os 128 filtros de tamanho 1x1 do primeiro B2 operam com janela deslizante com deslocamento de 2 *pixels*. Assim, as convoluções de tamanho 1x1 são responsáveis por reduzir e restaurar as dimensões dos dados, deixando as convoluções 3x3 com menores dimensões de entrada e saída.

Por ser uma rede residual, o resíduo da saída de cada bloco de camadas é passada para a saída do bloco seguinte, gerando um mapeamento residual. Esse mapeamento compreende o erro obtido nessa camada para todas as operações convolucionais. Dessa maneira, a cada três camadas convolucionais, emprega-se a equação:

$$y = f(x, W_i) + x, \quad (3)$$

onde  $x$  e  $y$  são os vetores de saída e entrada das camadas, respectivamente. A função  $f(x, W_i)$  representa o mapeamento residual a ser aprendido. Assim, evita-se a degradação da acurácia da rede (HE et al., 2016). Na Figura 12, é ilustrado um exemplo de mapeamento residual, onde o resíduo de uma camada é somado à saída do bloco convolucional.

Na *ResNet50*, a função de ativação empregada foi a *ReLU* (HAHNLOSER et al.,

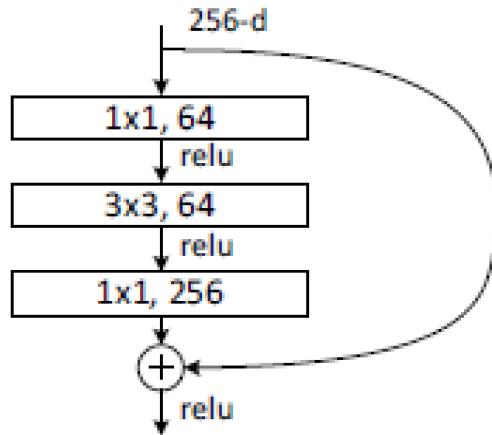


Figura 12 – Representação do mapeamento residual, onde o resíduo de um bloco de camadas é somado à saída do bloco seguinte. Imagem retirada de (HE et al., 2016)

2000), conforme dados apresentados nos trabalhos (HE et al., 2016; BAYRAMOGLU; HEIKKILÄ, 2016). Essa função pode ser definida por:

$$f(s) = \max(0, s). \quad (4)$$

A operação *ReLU* permite limiarizar valores em 0 (zero). Dessa forma, quando  $s \leq 0$ , o valor da função será 0 e quando  $s > 0$  o valor é  $s$ , como pode ser visto na Figura 13. Isso garante que: (i) não ocorra diminuição do gradiente quando  $s > 0$ , o que resulta em aprendizado mais rápido e (ii) uma representação esparsa dos valores quando  $s < 0$ , o que permite gerar melhores dados na fase de treinamento, conforme descrito em (JARRETT et al., 2009; NAIR; HINTON, 2010; AGARAP, 2018).

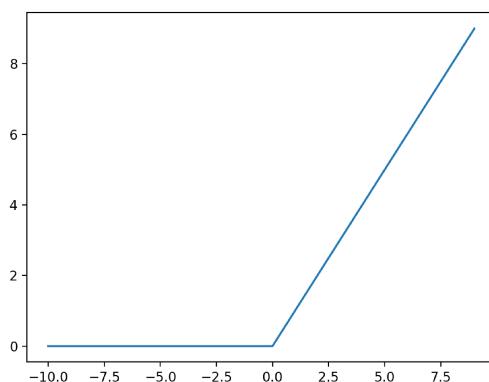


Figura 13 – Representação da função de ativação ReLU.

### 4.3.2 Mask R-CNN

A *Mask R-CNN*, proposta por (HE et al., 2017), é uma rede neural convolucional baseada em regiões. Essa rede busca analisar grupos de *pixels* similares agrupados em regiões para uma classificação. Na Figura 14, é apresentado um diagrama dessa arquitetura de rede.

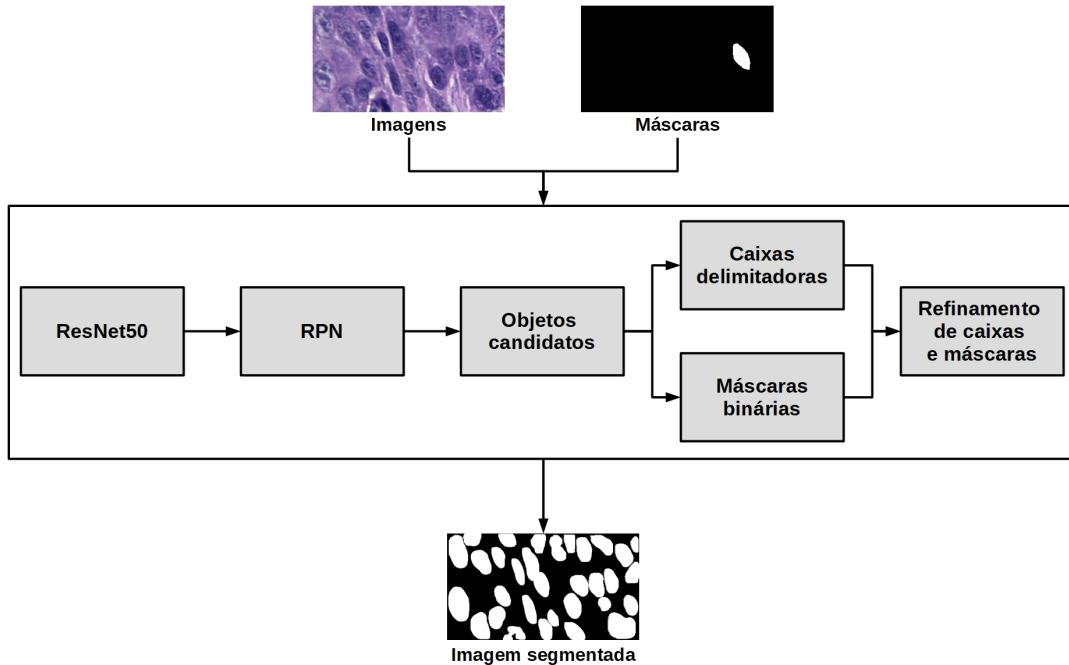


Figura 14 – Arquitetura da rede *Mask R-CNN* para classificação dos dados obtidos.

Essa fase do método de segmentação foi realizado em três etapas. A primeira e segunda etapa fazem parte de uma rede chamada de *Region Proposal Network* (RPN). Essa rede utiliza a ResNet 50 para identificar objetos na imagem, como pode ser visto na Figura 15. Para isso, ela utiliza as camadas convolucionais da ResNet 50 para gerar uma pirâmide de características, chamada de *Feature Proposal Network* (FPN). As camadas da FPN contém informações de alto e baixo nível da imagem, que são utilizadas identificar objetos presentes na imagem, através do cálculo de similaridade entre regiões (JADER et al., 2018).

Na segunda etapa, uma janela deslizante de tamanho  $3 \times 3$  foi empregada nas regiões propostas pela RPN para gerar um vetor de características. Esse vetor de características foi empregado em duas camadas totalmente conectadas, sendo uma para regressão de caixas delimitadoras e uma para classificação de regiões. A cada passo da janela deslizante,  $k$  regiões candidatas são calculadas simultaneamente. A camada de regressão possui tamanho igual a  $4k$ , referente às coordenadas  $x$  e  $y$  do canto superior esquerdo e pelos valores da altura  $h$  e largura  $w$  de cada região  $k$ . Já a camada de classificação possui tamanho igual a  $2k$ , que diz respeito à probabilidade da região pertencer à classe de núcleo e à probabilidade da região pertencer à classe de fundo. Um exemplo das caixas

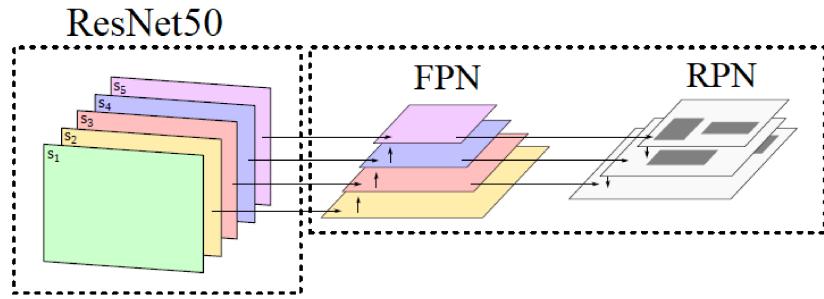


Figura 15 – Modelo da RPN aplicada à rede neural ResNet 50. Imagem retirada de (JADER et al., 2018).

delimitadoras geradas pode ser visto na Figura 16.

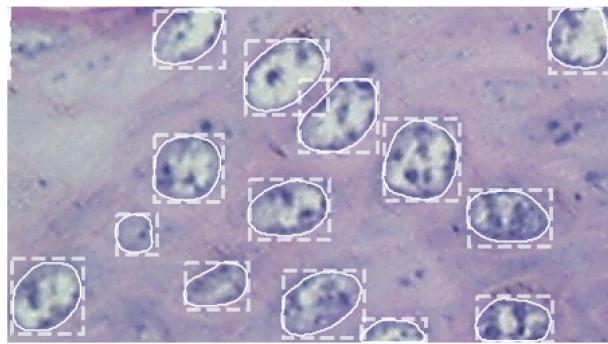


Figura 16 – Exemplo de caixas delimitadoras geradas para os núcleos presentes em um tecido.

Na terceira etapa, a rede produz uma máscara binária candidata para cada objeto presente na imagem. Especificamente, uma rede totalmente convolucional (do inglês: *Fully Convolutional Network* (FCN)) (LONG; SHELHAMER; DARRELL, 2015) foi utilizada em conjunto com mapas de características para estimar uma máscara de tamanho  $m \times n$  para cada núcleo presente na imagem. Na FCN, as características das camadas não foram transformadas em vetores. Isso permitiu às camadas manter o formato espacial  $m \times n$  em relação à imagem original. Um exemplo de máscaras geradas nessa etapa é apresentado na Figura 17

Durante a fase de treinamento da rede, uma taxa de perda multitarefa é calculada para cada região. A função de perda empregada é definida por:

$$L = L_{cls} + L_{box} + L_{mask}. \quad (5)$$

Nesse contexto, tem-se que  $L_{cls} = -\log p_u$ , em que  $p_u$  é a probabilidade de ocorrência do padrão-ouro  $u$  relativo a cada uma das  $K + 1$  classes (GIRSHICK, 2015).

A taxa de perda das caixas delimitadoras foi definida por:

$$L_{box}(t^u, v) = \sum_{i \in (x, y, w, h)} L_1(t_i^u - v_i), \quad (6)$$

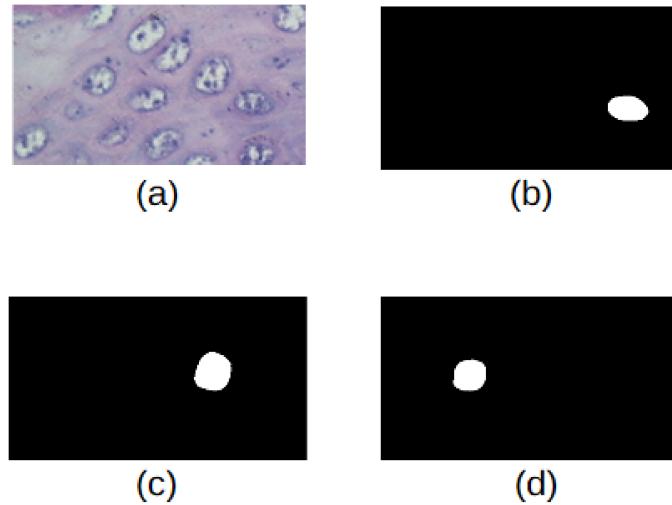


Figura 17 – Exemplo de máscaras resultantes: (a) imagem original, (b) (c) e (d) máscaras geradas para núcleos presentes na imagem.

onde:

$$L_1(x) = \begin{cases} 0.5x^2, & \text{se } |x| < 1 \\ |x| - 0.5, & \text{caso contrário} \end{cases}, \quad (7)$$

em que,  $t^u$  é a regressão das caixas,  $v$  é a caixa delimitadora calculada sobre o padrão-ouro,  $x$  e  $y$  são as coordenadas do canto superior esquerdo de cada objeto, e os parâmetros  $h$  e  $w$  são informações de altura e largura da região (GIRSHICK, 2015). Neste estudo, a  $L_{mask}$  adotada foi a média binária de entropia cruzada, conforme descrito no trabalho de (HE et al., 2017).

Na fase de treinamento, dez imagens para cada nível de displasia foram usadas. Com o auxílio de um patologista, uma máscara binária foi gerada para cada núcleo presente nas 40 imagens, totalizando 1220 máscaras de núcleos individuais. A rede foi pré-treinada com o banco de imagens ImageNet, que possui milhões de imagens, incluindo imagens histológicas, e aplicado o processo de transferência de conhecimento. Nesse processo, foi realizado um segundo treinamento, onde os pesos de todas as camadas foram atualizados a partir dos pesos resultados do treino com a ImageNet. Essa operação foi realizada utilizando a arquitetura *ResNet50* com 40 *epochs* e 150 iterações por *epoch*, baseado em testes empíricos realizados para o conjunto de dados. Os detalhes desses testes são exemplificados no Capítulo 5.1. A taxa de aprendizado empregada foi de 0,001 e com um otimizador *Stochastic Gradient Descent* (SGD) com *momentum* de 0,9, conforme proposto em (HE et al., 2017).

## 4.4 Pós Processamento

Após determinação das imagens binárias para cada núcleo, essas imagens podem resultar em núcleos com falhas em seus contornos, regiões não completamente preenchidas

e pequenos artefatos que podem comprometer a segmentação do núcleo. Com o objetivo de eliminar essas regiões de falsos-positivo e refinar os núcleos segmentados, na etapa de pós-processamento operações morfológicas foram empregadas.

O primeiro passo foi completar o contorno de núcleos e eliminar regiões de falsos-negativo, ou seja, preencher os núcleos. Para isso, a operação morfológica de dilatação foi empregada. Essa operação aumenta os objetos em uma imagem binária, preenchendo seus espaços nulos e intensificando linhas e contornos de bordas. Na Figura 18, pode ser visto o uso dessa operação utilizando um elemento estruturante em forma de cruz. Em um experimento empírico, determinou-se o tamanho  $3 \times 3$  pixels. Na Figura 18(a), é apresentada uma máscara binária contendo núcleos com buracos. Na Figura 18(c), são mostradas as informações obtidas após a operação de dilatação utilizando o elemento estruturante (ver Figura 18(b)).

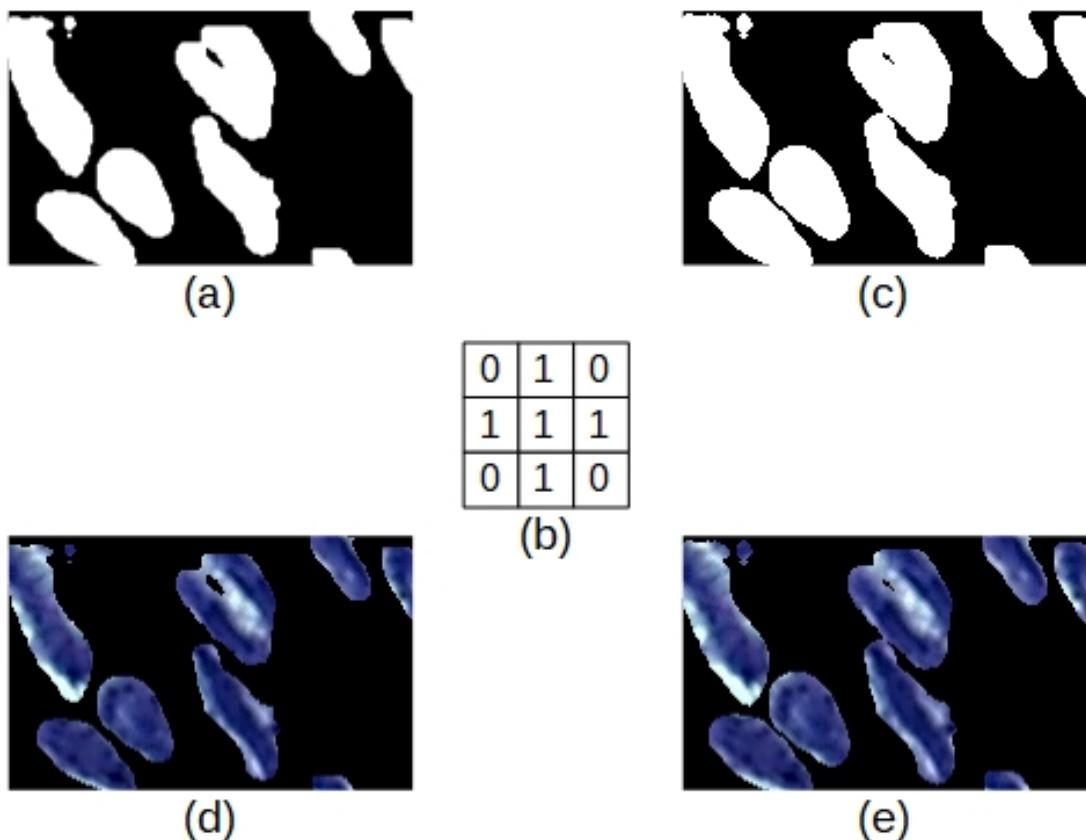


Figura 18 – Operação de dilatação binária: (a) máscara binária de núcleos displásicos com ruídos, (b) elemento estruturante em forma de cruz com tamanho  $3 \times 3$ , (c) máscara após a operação, (d) e (e) mostram a aplicação das máscaras (a) e (c) sobre a imagem original, respectivamente.

Após esse procedimento, regiões de falsos-negativo como regiões de núcleos não preenchidas podem estar presentes nas imagens. Então, uma função de preenchimento de regiões foi utilizada, conforme apresentado na Figura 19. Essa função procura regiões de contorno fechadas e atribui a todos os *pixels* da região o mesmo valor de intensidade do

contorno.

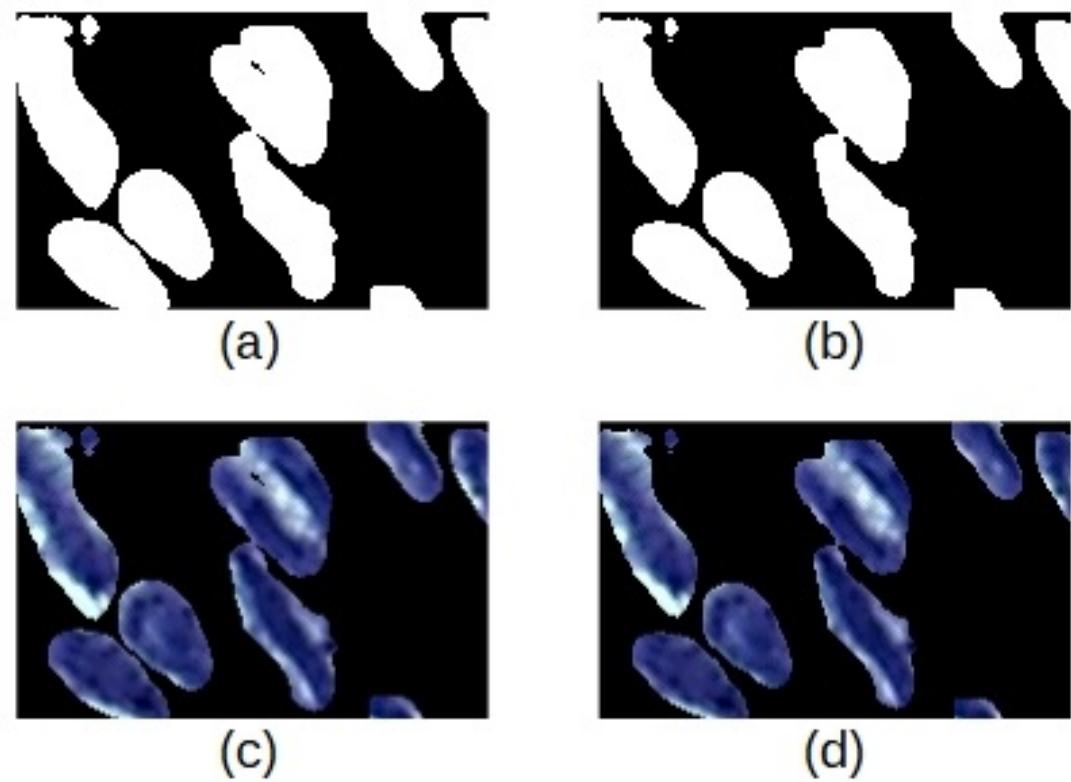


Figura 19 – Operação de preenchimento de regiões: (a) apresenta a imagem após a dilatação, (b) apresenta a aplicação da máscara sobre a imagem original. a imagem após a operação pode ser visto em (c) e a aplicação dessa máscara sobre a imagem original é mostrado em (d).

Um filtro de erosão, também com elemento estruturante em forma de cruz e com tamanho  $3 \times 3$ , foi usado para eliminar ruídos presentes nas imagens e para restaurar o tamanho inicial dos núcleos. Com base em testes empíricos, a aplicação do filtro de erosão após o preenchimento de regiões apresentou menor quantidade de falsos-negativos do que se aplicado antes da operação de preenchimento. Um exemplo dessa operação pode ser visto na Figura 20, onde a Figura 20(a) mostra uma imagem com presença de ruídos, na Figura 20(b) é mostrado o elemento estruturante e na Figura 20(c) é apresentada a imagem após a operação de erosão.

Finalmente, todos os objetos presentes na imagem com área calculada menor que 30 *pixels* foram rotulados como região de fundo. Esse valor foi determinado através de testes empíricos, sendo um tamanho de área adequado para eliminar regiões de falso-positivo ao mesmo tempo que mantém núcleos de tamanho pequeno. O resultado dessa etapa pode ser vista nas Figuras 21(a) e 21(b), que mostram a imagem antes e após a operação.

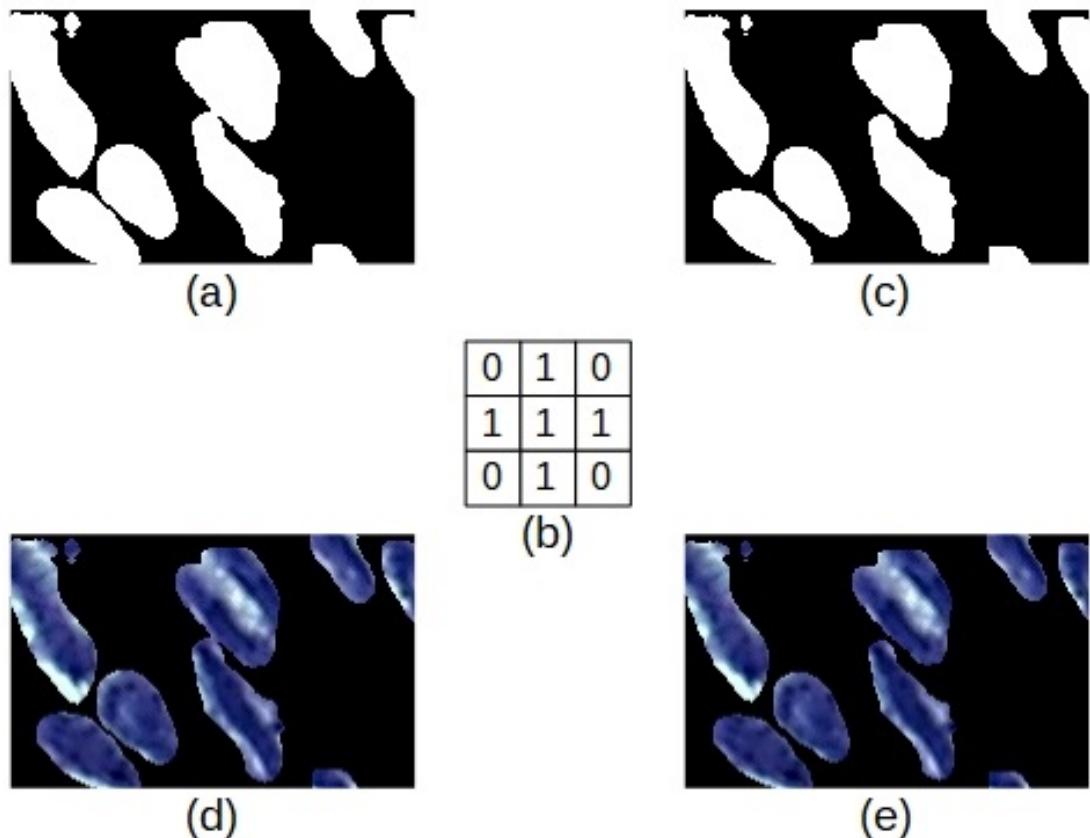


Figura 20 – Operação de erosão binária: (a) máscara binária após dilatação e preenchimento de buracos, (b) elemento estruturante em forma de cruz com tamanho  $3 \times 3$ , (c) máscara após a erosão. A aplicação das máscaras (a) e (c), pode ser vista em (d) e (e), respectivamente.



Figura 21 – Processo de segmentação após as operações de pós processamento envolvendo operações morfológicas.

## 4.5 Extração de Características

Para realizar a análise dos tecidos e definir seus níveis de displasia, características morfológicas e não morfológicas foram obtidas das imagens. As características morfológicas utilizadas foram Área ( $A$ ), Excentricidade ( $E$ ), Orientação ( $O_R$ ), Perímetro ( $P_E$ ) e Solidez ( $S$ ). e as características não morfológicas foram Entropia ( $E_N$ ) e *Índice de Moran* ( $I_M$ ). Essas informações foram selecionadas baseadas nos trabalhos (RUUSUVUORI et al., 2016; DEY et al., 2017; HAMEED; BANUMATHI; ULAGANATHAN, 2017; GONGAS; MORENO; BRAVO, 2018), que buscam analisar informações de regiões em imagens histológicas.

A métrica área é dada pelo valor total número de *pixels* em um objeto. A excentricidade é calculada pela forma de um objeto e define sua proximidade em relação a uma circunferência, sendo definida por:

$$E = \frac{a}{b}, \quad (8)$$

onde  $a$  é a distância entre o centro do objeto e um ponto fixo e  $b$  é a distância do centro para um vértice. A orientação determina a relação entre o maior eixo de um objeto e o eixo  $x$ , sendo definida por:

$$O = \arctan \left( \frac{D - B + \sqrt{(D - B)^2 + C^2}}{C} \right), \quad (9)$$

onde  $B$ ,  $C$  e  $D$  representam a variância dos *pixels* contidos no eixo  $y$ , no eixo  $x$  e no eixo maior, respectivamente. A métrica de perímetro é a medida do contorno de um objeto e é definida por:

$$P_E = 2\pi \sqrt{\frac{c^2 + d^2}{2}}, \quad (10)$$

onde  $c$  e  $d$  são os eixos maior e menor, respectivamente. A métrica de solidez é definida como a proporção entre a área do objeto e um polígono que abrange sua região convexa, ou seja, o menor polígono que abrange a área do objeto. Essa medida define o nível de irregularidade do formato do núcleo e é definida por:

$$S = \frac{A}{R_a}, \quad (11)$$

onde  $A$  é a área do núcleo e  $R_a$  é a região convexa.

No caso das medidas não morfológicas, a entropia opera sobre os níveis de intensidade de uma região e mede a variação de intensidade da textura para uma vizinhança de *pixels*, sendo definida por:

$$E_N = - \sum_{i=1}^n p_i \log_2 p_i, \quad (12)$$

onde  $p_i$  é a probabilidade de ocorrência do  $i$ -ésimo nível de intensidade e  $n$  representa o número de tons de cinza presentes na imagem. Para obter os tons de cinza das imagens, as mesmas foram transformadas para o modelo de cores HSL e os canais de *hue* e saturação

foram eliminados, mantendo o canal de brilho. Neste estudo, 7 tamanhos de vizinhança foram utilizados para a extração de entropia:  $3 \times 3$ ,  $5 \times 5$ ,  $7 \times 7$ ,  $9 \times 9$ ,  $11 \times 11$ ,  $13 \times 13$  e  $15 \times 15$  pixels, com base no estudo apresentado em (KLEPPE et al., 2018).

Já o *Índice de Moran* mede a autocorrelação espacial a partir do desvio da intensidade de um pixel em comparação com a média da região, o qual é dado por:

$$I = \frac{N \sum_i \sum_j w_{ij} Z_i Z_j}{w \sum_i Z_i^2}, \quad (13)$$

onde  $N$  é o número de pixels,  $w_{ij}$  representa a vizinhança do pixel  $ij$ ,  $W$  é a soma de todos os  $w_{ij}$  e  $Z_i$  e  $Z_j$  representam os desvios dos pixels  $z_i$  e  $z_j$  em relação à média  $z$ , sendo calculado por  $Z_k = z_k - z$ .

Essas 13 características foram extraídas de maneira individual para cada núcleo  $n$  que compõe uma imagem  $I_k$ , com  $k = 1, 2, \dots, N$  representando o número de imagens. Dessa forma, cada  $I_k$  é representado por uma matriz de tamanho  $13 \times n$ . Dessa matriz, foram extraídas as medidas estatísticas de média (M) e desvio padrão (D) para cada característica presente dentro da  $I$ . Assim, foram gerados dois vetores com 13 descritores cada,  $M_k = [m_1, m_2 \dots m_{13}]$  e  $D_k = [d_1, d_2 \dots d_{13}]$ , onde  $m_l$  representa a média das características  $l$  dos núcleos da imagem  $I$  e  $d_l$  representa o desvio padrão. Por fim, esses vetores foram concatenados, gerando uma representação  $I_k = [M_k, D_k] = [m_1 \dots m_{13}, d_1 \dots d_{13}]$  que foi empregado na etapa de classificação das imagens.

## 4.6 Classificação

Com a obtenção das características e com o objetivo de quantificar em grupos de lesões, as imagens foram classificadas utilizando o classificador polinomial (POL) (NASCIMENTO et al., 2013). Esse classificador foi empregado devido aos resultados relevantes apresentados para análise de imagens médicas. A proposta do classificador é empregar a expansão polinomial sobre o vetor de características para determinação dos coeficientes que possam separar as classes (MARTINS et al., 2017). Para isso, emprega-se uma função polinomial discriminante:

$$g(x) = e^T P_n(x), \quad (14)$$

em que  $e$  é um vetor de pesos com base polinomial obtido através do cálculo dos mínimos quadrados,  $P_n(x)$  é um vetor de base polinomial, cujas entradas são funções arbitrárias de  $x$ , e  $n$  representa a ordem da função polinomial. Por exemplo, para um vetor bidimensional  $x = [x_1 x_2]^T$ , os elementos de  $p_2(x)$  são  $p_2(x) = [1 \ x_1 \ x_2 \ x_1^2 \ x_1 x_2 \ x_2^2]^T$ .

O classificador foi treinado com duas classes de entrada ( $m = 2$ ) e considerando as seguintes combinações de imagens: saudável *versus* leve ( $S \times L$ ), saudável *versus* moderada ( $S \times M$ ), saudável *versus* severa ( $S \times S_E$ ), leve *versus* moderada ( $L \times M$ ), leve *versus* severa ( $L \times S_E$ ) e moderada *versus* severa ( $M \times S_E$ ). Para cada combinação, essas classes foram identificadas como  $\omega_1$  e  $\omega_2$  e  $N$  amostras  $\{X_1, X_2, \dots, X_N\}$  foram utilizadas para

determinar os coeficientes da função polinomial apresentada na equação 14. As expansões polinomiais dos vetores de características foram concatenadas como:

$$M_p = [P_n(x_1) \ P_n(x_2) \ \dots \ P_n(n_N)]^T, \quad (15)$$

O vetor de pesos  $a$  utilizado na equação (14) é o valor ótimo de  $a^*$  que minimiza o critério de erro quadrático médio:

$$J_S(a) = \| Na - b \|^2. \quad (16)$$

Esse valor mínimo para o critério pode ser definido por:

$$a^* = (M^T)^{-1} M^T b. \quad (17)$$

Com o valor de  $g(x)$ , obtido a partir da equação (14), os dados analisados são atribuídos às classes  $\omega_1$  ou  $\omega_2$  por meio da regra de decisão definida por:

$$Decida \begin{cases} \omega_1, & \text{se } g < 0. \\ \omega_2, & \text{se } g > 0. \end{cases} \quad (18)$$

## 4.7 Métricas de Avaliação

A avaliação quantitativa do método é realizada pela estimativa de sobreposição de regiões entre as imagens segmentadas e o padrão-ouro. A partir dessa comparação, é possível obter quatro classes de classificação de *pixels*: os verdadeiros-positivos (VP), falsos-positivos (FP), os verdadeiros-negativos (VN) e os falsos-negativos (FN).

No contexto de segmentação, VP são referentes aos *pixels* corretamente identificados como objeto, FP dizem respeito aos *pixels* incorretamente classificados como objeto, VN são os *pixels* corretamente marcados como região de fundo e FN são *pixels* incorretamente identificados como região de fundo (BARATLOO et al., 2015). De maneira semelhante, para classificação binária entre as classes  $\omega_1$  e  $\omega_2$ , os VP dizem respeito às imagens corretamente classificadas como  $\omega_1$ , os FP são as imagens incorretamente classificadas como  $\omega_1$ , os VN se referem às imagens corretamente classificadas como  $\omega_2$  e os FN representam as imagens incorretamente classificadas como  $\omega_2$ .

Dessas medidas, as seguintes métricas foram extraídas com o objetivo de avaliar o desempenho da segmentação: Sensibilidade ( $S_E$ ), Especificidade ( $E_S$ ), Acurácia ( $A_C$ ), Taxa de Correspondência ( $T_C$ ) e Coeficiente Dice ( $D_C$ ). Na classificação foi empregada a área sob a curva *ROC* (do inglês: *Area Under the Curve* (AUC)) (BARATLOO et al., 2015; TRAN, 2016; MA et al., 2018).

Os valores de sensibilidade são usados para determinar a quantidade de *pixels* corretamente identificados como objeto de interesse definida pela equação (19). A especificidade

é usada para aferir a quantidade de objetos que foram corretamente marcados como região de fundo, sendo definida pela equação (20):

$$S_E = \frac{VP}{VP + FN}. \quad (19)$$

$$E_S = \frac{VN}{VN + FP}. \quad (20)$$

Já a acurácia determina a taxa de *pixels* corretamente classificados em toda a imagem. Ela é obtida através da equação (21):

$$A_C = \frac{VP + VN}{PO}. \quad (21)$$

A taxa de correspondência avalia a relação entre duas amostras, analisando o quanto distante o resultado obtido está do padrão ouro, a qual é obtida pela seguinte equação:

$$T_C = \frac{VP - (0,5 \times FP)}{VP + VN + FP + FN}. \quad (22)$$

O coeficiente Dice é usado para medir a similaridade entre o padrão-ouro e o resultado obtido, o qual é dado por:

$$D_C = \frac{2 \times VP}{2 \times VP + FP + FN}. \quad (23)$$

Por fim, a área sob a curva *ROC* é utilizada para avaliar o desempenho do classificador entre as diferentes classes de tecidos (METZ, 1978; CHEN et al., 2016; HUYNH; LI; GIGER, 2016). A Característica de Operação do Receptor (do inglês: *Receiver Operating Characteristic (ROC)*) (HANLEY; MCNEIL, 1982) é uma representação gráfica do desempenho de um classificador binário, sendo obtida ao se traçar o gráfico da sensibilidade *versus* a taxa de falsos-positivo, a qual é definida por:

$$TFP = 1 - S_E, \quad (24)$$

onde  $S_E$  é a métrica de sensibilidade. Um exemplo da curva *ROC* pode ser vista na Figura 22.

A AUC é computada utilizando a equação:

$$A = \int_{x=0}^1 S_E(TFP^{-1}(x))dx, \quad (25)$$

em que  $x$  representa os objetos classificados e  $dx$  é a probabilidade do objeto ser classificado como uma classe.

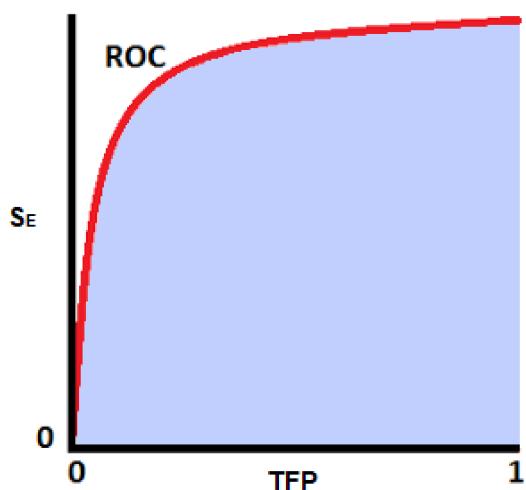


Figura 22 – Exemplo da curva *ROC*, traçada pela  $S_E$  versus a  $TFP$  de objetos classificados. Em azul está a área sob a curva, que define o desempenho do sistema ao classificar um núcleo entre duas classes.

# CAPÍTULO 5

## Experimentos e Análise dos Resultados

Neste capítulo, são apresentados os resultados obtidos nas diferentes etapas da metodologia proposta. São mostradas, também, as comparações com outros métodos de segmentação e classificação presentes na literatura.

### 5.1 Avaliação no Treinamento da Rede

O modelo *Mask R-CNN* pode ser utilizado como arquitetura as redes convolucionais *ResNet50* ou *ResNet101*. Uma avaliação empírica foi realizada com as imagens histológicas para definir qual a arquitetura mais adequada para a etapa de segmentação. Na Figura 23, são apresentadas as taxas de perda das redes durante a etapa de treinamento. Os resultados mostram que a *ResNet50* obteve menor taxa de perda durante esse processo. Com base nesses resultados e em testes realizados durante o desenvolvimento do projeto, constatou-se que a *ResNet50* apresentou melhores resultados na segmentação dos núcleos. Também foi observado que, a partir de 40 *epochs*, a taxa de perda se mantém no mesmo intervalo de valores, o que permite adotar esse valor para as avaliações das imagens.

A rede também foi avaliada em relação ao número de iterações em cada *epoch*, como pode ser visto na Figura 24. Os resultados mostraram que o desempenho com 150 iterações foi mais relevante do que com 50 iterações, mas com um número maior de iterações isso pode gerar resultados similares (250 iterações). Assim, neste estudo, o valor de 150 iterações foi empregado no treinamento da rede.

### 5.2 Segmentação

Os resultados obtidos na segmentação com a metodologia proposta são apresentados nas Figuras 25, 26, 27 e 28. Na Figura 25, é mostrado o resultado da segmentação de um tecido saudável. O método permitiu a identificação de núcleos celulares, conforme apresentado na Figura 25(d). No entanto, nota-se na Figura 25(c) que há regiões de FP

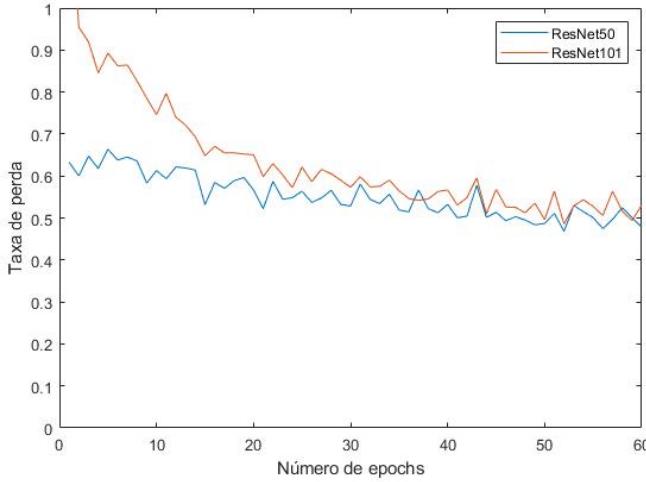


Figura 23 – Comparação de desempenho da *Mask R-CNN* nas redes *ResNet50* e *ResNet101*.

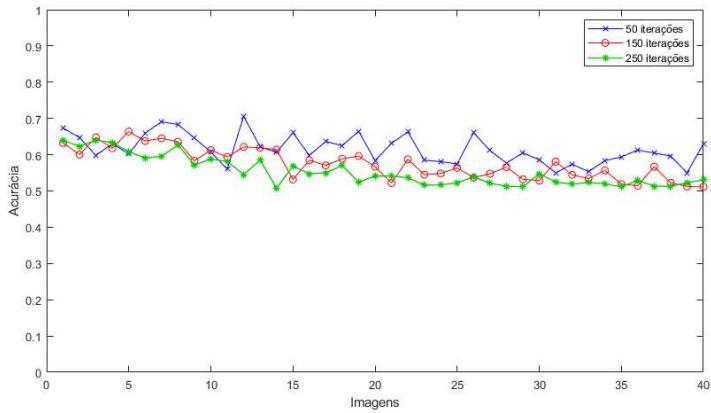


Figura 24 – Avaliação da rede utilizando 50, 150 e 250 iterações.

(setas marcadas na cor vermelha). Essas regiões que não foram marcadas pelo especialista no padrão-ouro (Figura 25(b)) apresentam grânulos e estruturas histológicas com intensidade de cores similares à região dos núcleos e foram segmentadas erroneamente.

Na Figura 26(d), são apresentados os resultados da segmentação de uma displasia leve. Pela Figura 26(a), nota-se que nesse tecido não há contraste visual tão expressivo como acontece na Figura 25(a) (imagem saudável). Os resultados mostram que o algoritmo foi capaz de identificar núcleos e definir suas regiões, apresentando poucas regiões de FN (indicadas pelas setas em cor verde) como observado na Figura 26(c). Isso mostra que essas regiões foram eliminadas em relação às marcações do especialista (ver Figura 26(b)).

Os resultados da segmentação de uma displasia moderada podem ser vistos na Figura 27(d). Analisando a imagem da Figura 27(a), é possível observar que, nesse estágio da lesão, os núcleos não possuem formato definido, a coloração pode variar e suas bordas podem estar manchadas. Os resultados são apresentados na Figura 27(c), em que

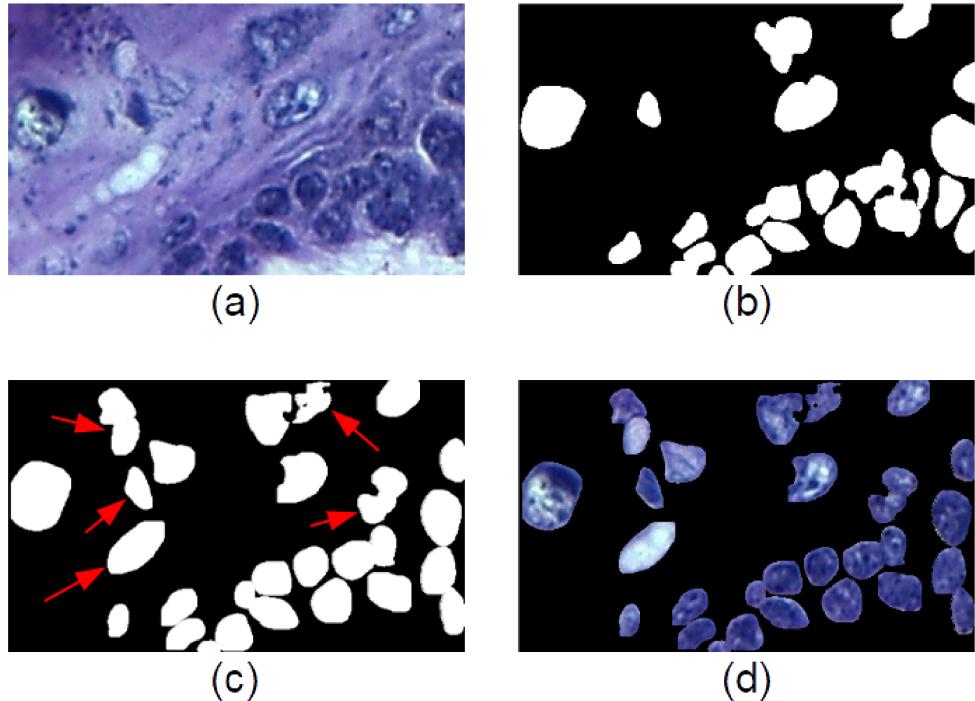


Figura 25 – Segmentação em uma imagem de tecido saudável com uso da *Mask R-CNN*: (a) imagem original, (b) padrão-ouro, (c) máscara resultante e (d) aplicação da máscara sobre a imagem original. As setas em vermelho indicam regiões FP.

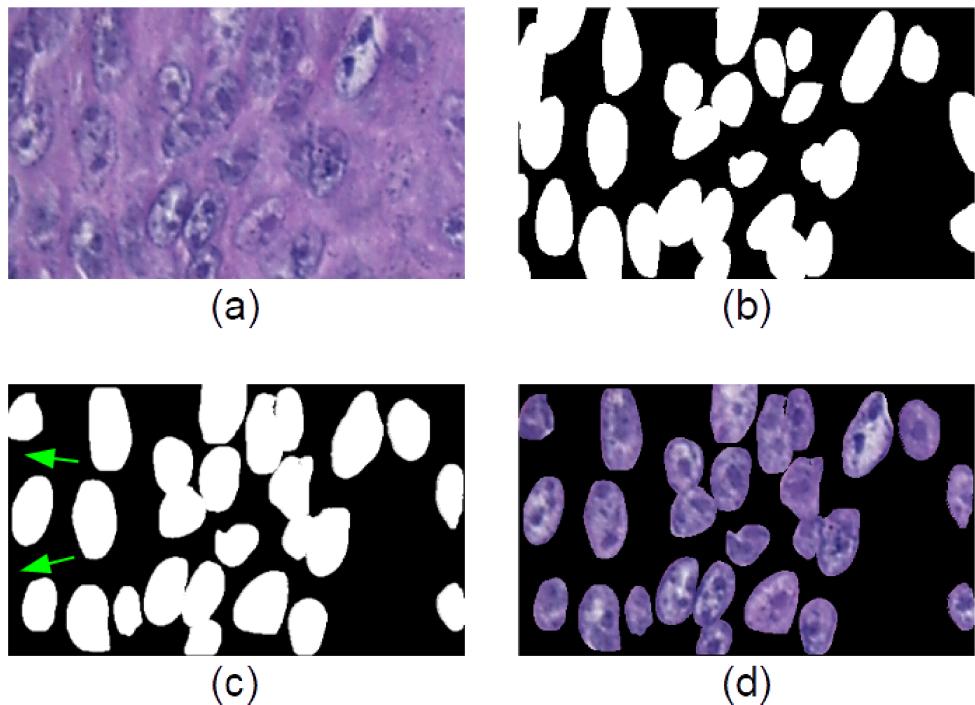


Figura 26 – Segmentação em uma imagem de displasia leve através da *Mask R-CNN*: (a) imagem original, (b) padrão-ouro, (c) máscara resultante e (d) aplicação da máscara sobre a imagem original. As setas em verde indicam regiões FN.

é possível observar que o método proposto foi capaz de identificar os núcleos presentes

na imagem, mas apresentou algumas regiões de FP, que são indicadas pelas setas de cor vermelha. Essas regiões foram segmentadas por possuírem coloração similar à dos núcleos próximos. A segmentação também gerou região de FN, que é indicada pela seta em cor verde (Figura 27(c)). É possível que essa região não tenha sido segmentado devido a apenas uma parte dessa região estar contida na imagem (ver Figura 27(b)).

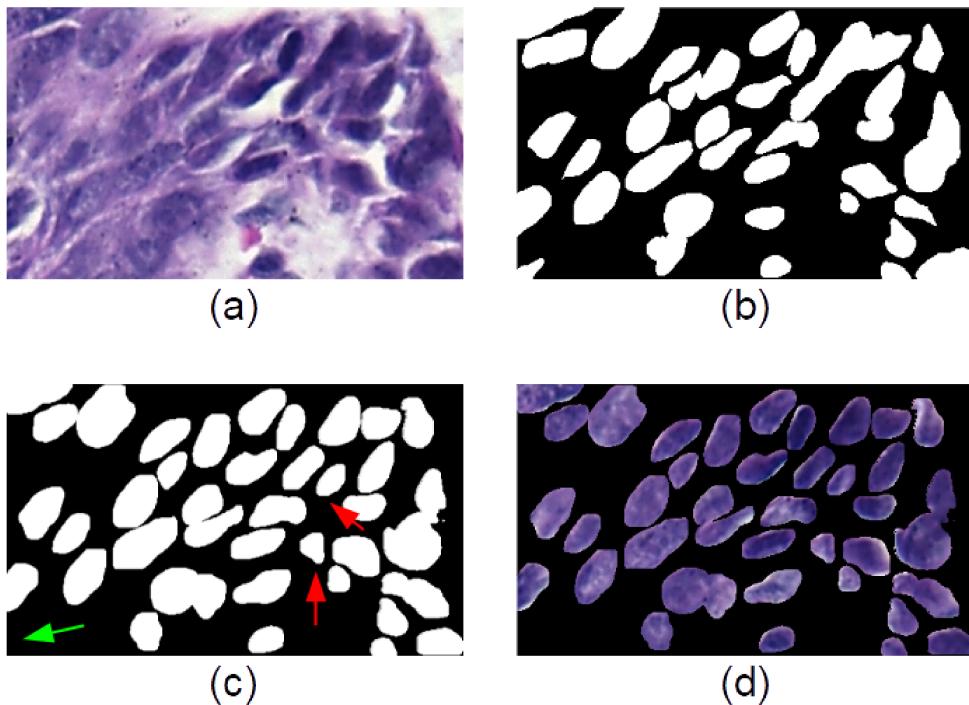


Figura 27 – Segmentação em uma imagem de displasia moderada utilizando a *Mask R-CNN*: (a) imagem original, (b) padrão-ouro, (c) máscara resultante e (d) aplicação da máscara. As setas em vermelho indicam regiões de FP e as setas em verde indicam regiões FN.

Na Figura 28(a), é apresentado o resultado de segmentação de uma displasia severa. Nesse estágio, os núcleos apresentam formato e tamanho irregulares e bordas borradadas. Na Figura 28(c)m podem ser vistas as regiões de FP e FN. A região de FP (indicada pela seta de cor vermelha) é uma mancha de pigmentação e foi segmentada porque possui coloração similar aos núcleos. Já as regiões de FN (indicadas pelas setas em cor verde) são regiões de núcleos marcadas no padrão-ouro (Figura 28(b)), mas não foram segmentadas por apresentarem coloração mais clara do que o restante dos núcleos da imagem. O resultado de todo o processo da segmentação é visto na Figura 28(d).

Por meio das Figuras 25(c), 26(c), 27(c) e 28(c), é possível notar contornos irregulares em alguns núcleos e a presença de ruídos correspondentes a FP. A presença dessas regiões motivou a aplicação da etapa de pós-processamento para corrigir as irregularidades.

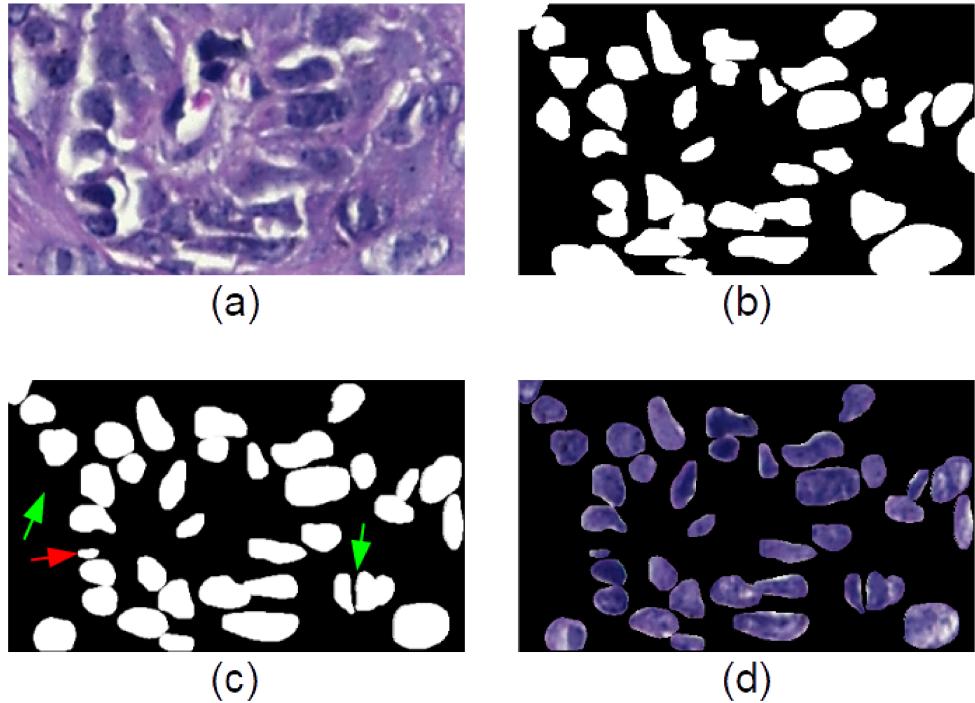


Figura 28 – Segmentação em uma imagem de displasia severa com uso da *Mask R-CNN*: (a) imagem original, (b) padrão-ouro, (c) máscara resultante e (d) aplicação da máscara sobre a imagem original. As setas em vermelho indicam regiões de FP e as setas em verde indicam FN.

### 5.2.1 Pós-processamento

Na Figura 29, são apresentados os resultados após o pós-processamento sobre uma imagem de displasia severa. Nota-se, na Figura 29(b), que alguns regiões de núcleos possuem buracos ou lacunas e que na Figura 29(c) esses defeitos foram reduzidos (indicados pelas setas na cor vermelho). Para eliminar os FN presentes, a função de preenchimento de regiões foi empregada e os resultados são apresentados na Figura 29(d). Essas regiões estão marcadas com as setas na cor verde, as quais permitem indicar que as regiões FN foram eliminadas. Por fim, a operação de erosão foi aplicada para retornar os núcleos ao seu tamanho original, como pode ser visto na Figura 29(e). Na Figura 29(f), é mostrada a aplicação da máscara da erosão sobre a imagem original. Em seguida, alguns artefatos de tamanho pequeno (área menor do que 30 *pixels*), que podem ser ruídos obtidos no processo de coloração da imagem, foram eliminados (ver Figura 30).

Para a avaliação quantitativa da segmentação, 30 imagens histológicas de cada classe foram selecionadas aleatoriamente e segmentadas manualmente por um especialista (total de 120 imagens). Uma análise do desempenho do método sobre as imagens marcadas pelo especialista é apresentada na Figura 31. É possível observar que todas as classes apresentaram variação nos resultados, mas mantendo acurácia acima de 80%. O tecido leve e a displasia leve apresentaram resultados próximos da 90% com picos acima desse valor. A displasia moderada foi a classe que apresentou maior variação nos resultados e a

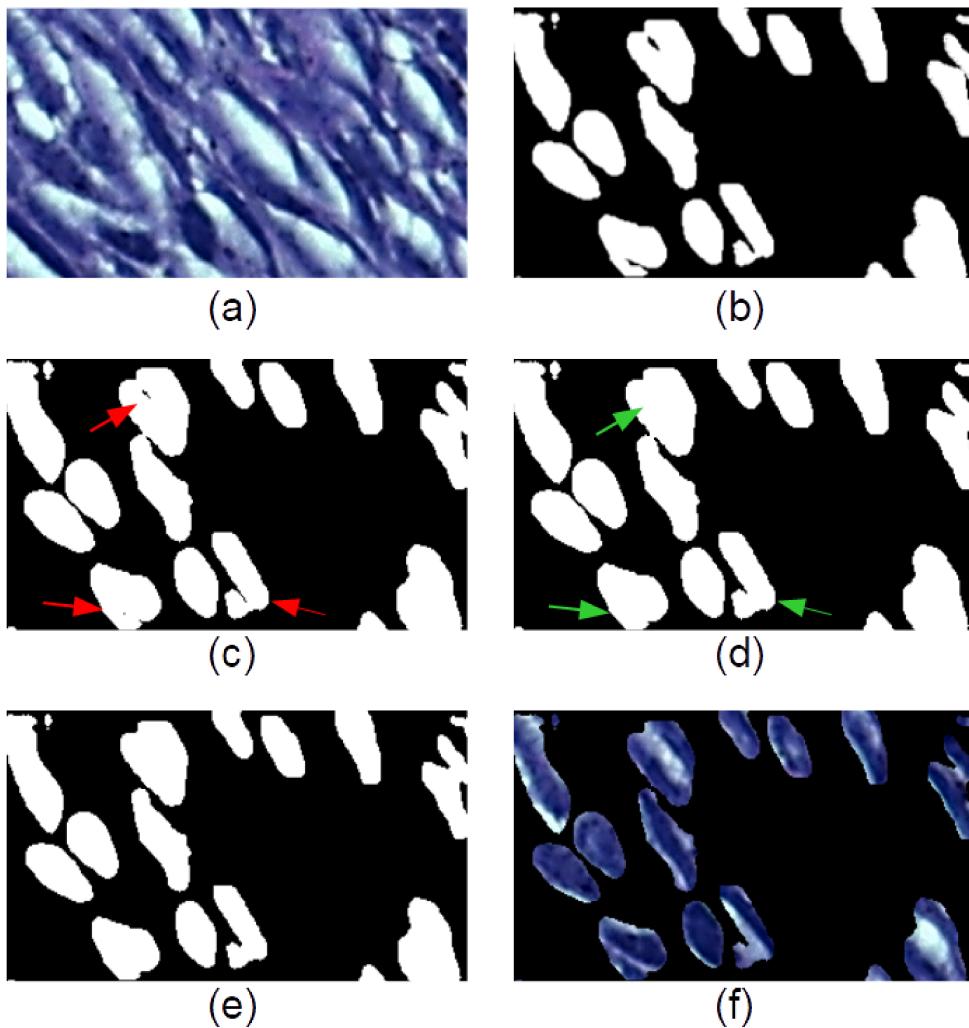


Figura 29 – Etapas de pós-processamento em uma imagem de displasia severa: (a) imagem original, (b) máscara após a segmentação, (c) máscara binária após a operação de dilatação e (d) aplicação da operação de preenchimento de buracos, (e) máscara binária após a operação de erosão e (f) aplicação da máscara sobre a imagem original.



Figura 30 – Eliminação de um objeto com área menor do que 30 pixels.

displasia severa apresentou uma quantidade considerável de imagens próximas a 80%. Na Tabela 2, são apresentados os valores médios  $\pm$  desvio padrão obtidos com as métricas para as classes das displasias. Observa-se que o método obteve um valor médio de  $A_C$

de 90,34%, 90,12%, 89,33% e 88,28%, respectivamente, para a segmentação dos tecidos saudáveis, displasia leve, displasia moderadas e displasia severa. Em imagens com displasias severas, as métricas  $S_E$  e  $A_C$  foram menores que os resultados das outras classes de lesões. Isso mostra que o método tem uma maior dificuldade na identificação dos núcleos para essa classe. Isso pode ocorrer porque alguns núcleos apresentam maior alteração morfológica, o que dificulta o algoritmo a defini-lo, podendo ser confundido como região de fundo (KUMAR; ASTER; ABBAS, 2010).

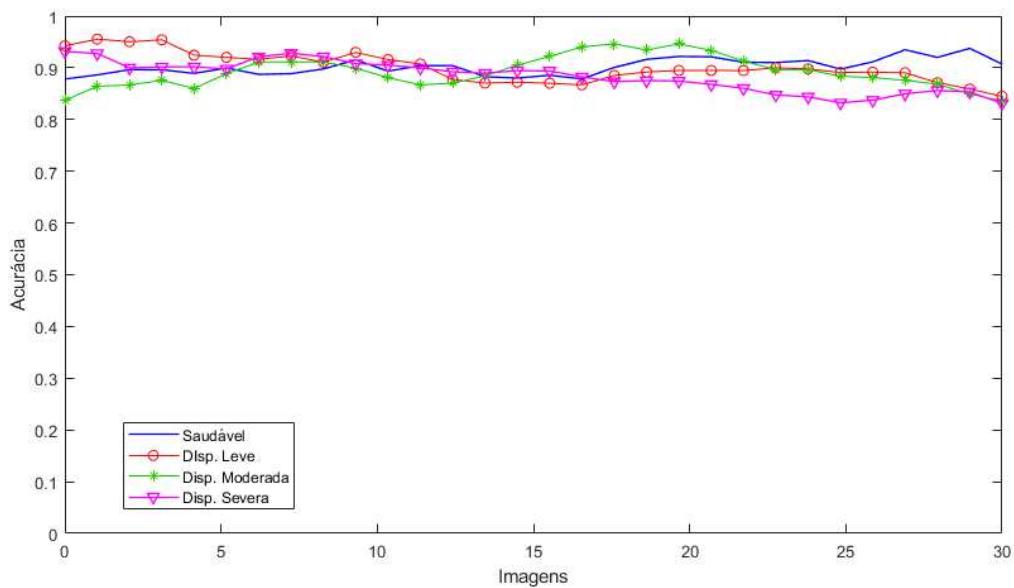


Figura 31 –  $A_C$  da segmentação das imagens de tecidos saudáveis, displasia leve, displasia moderada e displasia severa em comparação ao padrão-ouro.

Tabela 2 – Avaliação do método proposto em tecidos com diferentes níveis de displasia.

	$S_E$ (%)	$E_S$ (%)	$A_C$ (%)
Saudável	$89,00 \pm 0,06$	$91,22 \pm 0,04$	$90,34 \pm 0,04$
Leve	$89,12 \pm 0,05$	$90,47 \pm 0,04$	$90,12 \pm 0,04$
Moderada	$85,99 \pm 0,05$	$90,76 \pm 0,04$	$89,33 \pm 0,04$
Severa	$84,84 \pm 0,07$	$89,30 \pm 0,04$	$88,28 \pm 0,04$

### 5.3 Análise Comparativa com Técnicas para a Segmentação

Na literatura, não foram encontrados de algoritmos desenvolvidos para segmentação de displasia da cavidade bucal. Por isso, os principais algoritmos empregados em diversos estudos para a segmentação de estruturas celulares, principalmente regiões de núcleo, em imagens histológicas coradas com H&E foram escolhidos para comparação de resultados.

Os métodos *Otsu* (OTSU, 1979) e *K-means* (MACQUEEN et al., 1967) foram escolhidos devido à sua ampla utilização para comparação na segmentação de núcleos em imagens histológicas, como pode ser visto nos trabalhos (KRISHNAN et al., 2010; AMIN et al., 2015; GUO et al., 2015; SUNDSTROM et al., 2016; XU et al., 2017). O método *SegNet* (BADRINARAYANAN; KENDALL; CIPOLLA, 2017) foi escolhido por propor um algoritmo para segmentação para as estruturas nucleares presentes nas imagens, conforme descrito nos trabalhos (TANG; LI; XU, 2018; TOKIME; ELASSADY; AKHLOUFI, 2018; MEJBRI et al., 2019). Neste estudo, para a aplicação do método *Otsu*, as imagens foram transformadas para o modelo de cores HSL e o canal de brilho foi utilizado para se obter os tons de cinza das imagens. O método *K-means* foi aplicado em todos os canais das imagens e o número de classes utilizado foi igual a 3. Já a rede *SegNet* foi treinada utilizando utilizando as mesmas ROI utilizadas no treinamento da *Mask R-CNN*, porém as imagens de entrada foram recortes dos núcleos celulares. A rede foi treinada utilizando os métodos de *image augmentation* de rotação e espelhamento, tamanho de *mini batch* igual a 9 imagens, 20 epochs, taxa de aprendizado de 0,001 e otimizador Adam.

Na Figura 32, é apresentado os resultados obtidos na segmentação de um tecido leve utilizando esses métodos. Nas Figuras 32(a) e 32(b), são mostradas as imagens original e o padrão-ouro, das Figuras 25(a) e 25(b), respectivamente. O resultado da segmentação com o métodos *Otsu*, *K-means* e *SegNet* são apresentados nas Figuras 32(c), 32(d) e 32(e), respectivamente. Todos os métodos apresentaram regiões FP (indicadas por setas em cor vermelha), sendo que os métodos *Otsu* e *SegNet* uniram regiões de núcleos próximos. Há também regiões com artefatos no canto superior esquerdo (como pode ser visto na Figura 32(a)) que foram segmentados erroneamente por todos esses métodos empregados na comparação. O método proposto difere por conseguir tratar essa restrição (como pode ser observado na Figura 25(c)). Em algumas imagens, existem núcleos parcialmente segmentados (apontados pelas setas em cor verde). Dos métodos avaliados, o *Otsu* foi o que apresentou a maior quantidade de FP e o *K-means* apresentou maior quantidade de núcleos parcialmente segmentados. Já o *SegNet* conseguiu um segmentação mais próxima do padrão-ouro numa análise visual do resultado (Figura 32(b)).

Na Figura 33 são apresentados os resultados para a segmentação de uma displasia leve com os métodos empregados na comparação. Nas Figuras 33(a) e 33(b), são apresentadas as imagens denominadas original e padrão-ouro. Os algoritmos apresentaram comportamentos próximos às Figuras 32(c), 32(d) e 32(e). O método *Otsu* (ver Figura 33(c)) apresentou muitas regiões FP (setas na cor vermelha) e também segmentou muitos núcleos de maneira incorreta, como pode ser visto pelas setas em cor verde. O algoritmo *K-means* (Figura 33(d)) gerou muitas regiões FN dentro dos núcleos segmentados (que são marcados por setas na cor verde) e alguns *pixels* incorretamente selecionados como objetos (essas regiões FP são vistas pelas setas de cor vermelha). Já o método *SegNet* (ver Figura 33(e)) apresentou regiões de FN, como pode ser observado visualmente, não

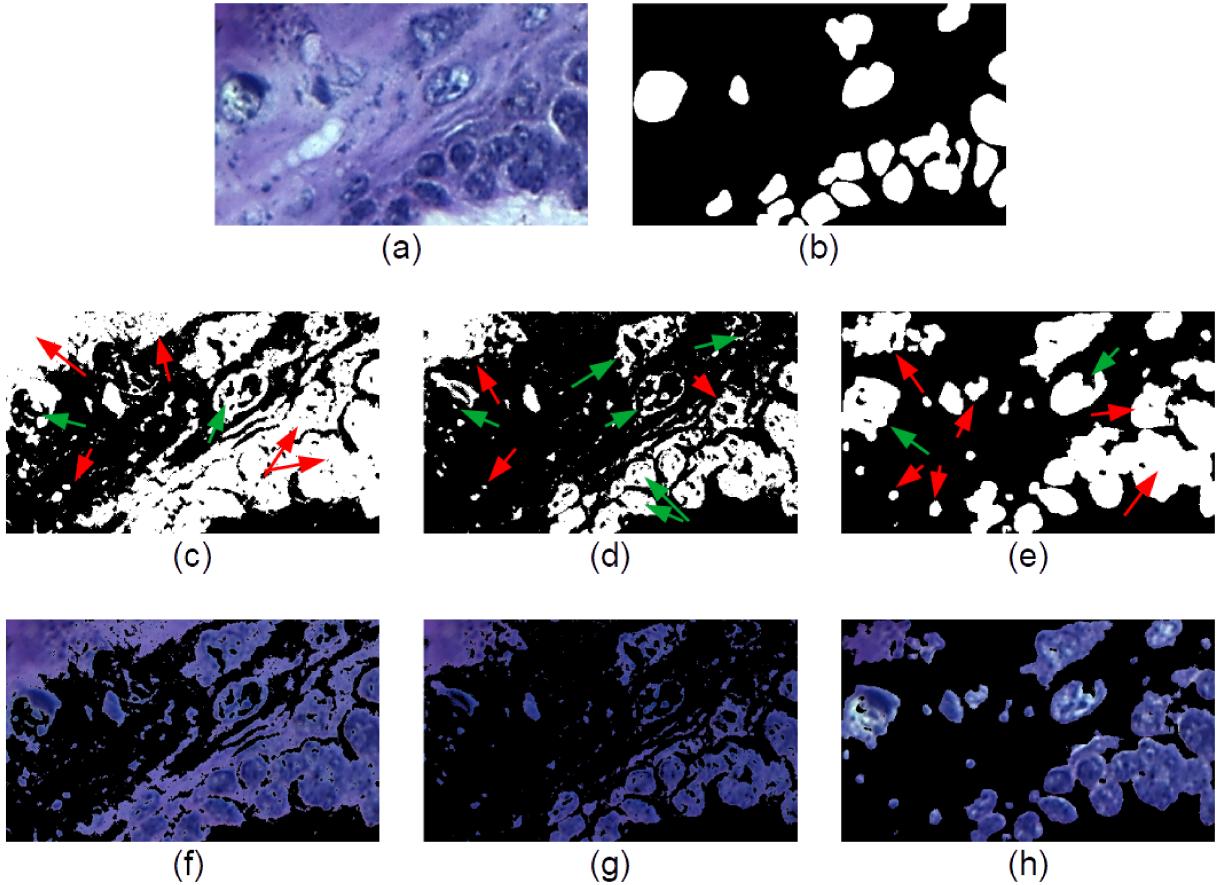


Figura 32 – Resultado de segmentação de um tecido saudável. Em (a) e (b) são apresentadas a imagem original e o padrão-ouro presentes nas Figuras 25(a) e (b), respectivamente. Em (c) e (f) podem ser exibidas a máscara e o resultado final para a segmentação com o método *Otsu*. A máscara e segmentação com o *K-means* são apresentadas em (d) e (g). Em (e) e (h) os resultados com o método *SegNet* são mostrados. As setas em cor vermelha indicam regiões de FP e as setas na cor verde indicam FN.

segmentando os núcleos de maneira correta e gerando áreas de FP.

Nas Figuras 34 e 35, são apresentados os resultados da segmentação para imagens de displasia moderada e severa, respectivamente. As imagens originais das displasias moderada e severa são exibidas, respectivamente, nas Figuras 34(a) e 35(a). As imagens de padrão-ouro são apresentadas nas Figuras 34(b) e 35(b), respectivamente, para a displasia moderada e severa. De forma semelhante, o método de *Otsu* segmentou boa parte da região de fundo para essas lesões, gerando muitos FP (marcado pelas setas em cor vermelha nas Figuras 34(c) e 35(c)). Há também falhas na segmentação de alguns núcleos, como é apontado pelas setas de cor verde nas Figuras 34(c) e 35(c). O algoritmo *K-means* gerou regiões com lacunas na segmentação de núcleos, como pode ser visto nas Figuras 34(d) e 35(d) (setas marcadas na cor azul). Isso ocorreu em núcleos com bordas borradadas ou regiões que têm parte com tonalidades claras (esses núcleos são indicados por setas na cor azul nas Figuras 34(a) e 35(a)). Além disso, esse método segmentou algumas regiões de

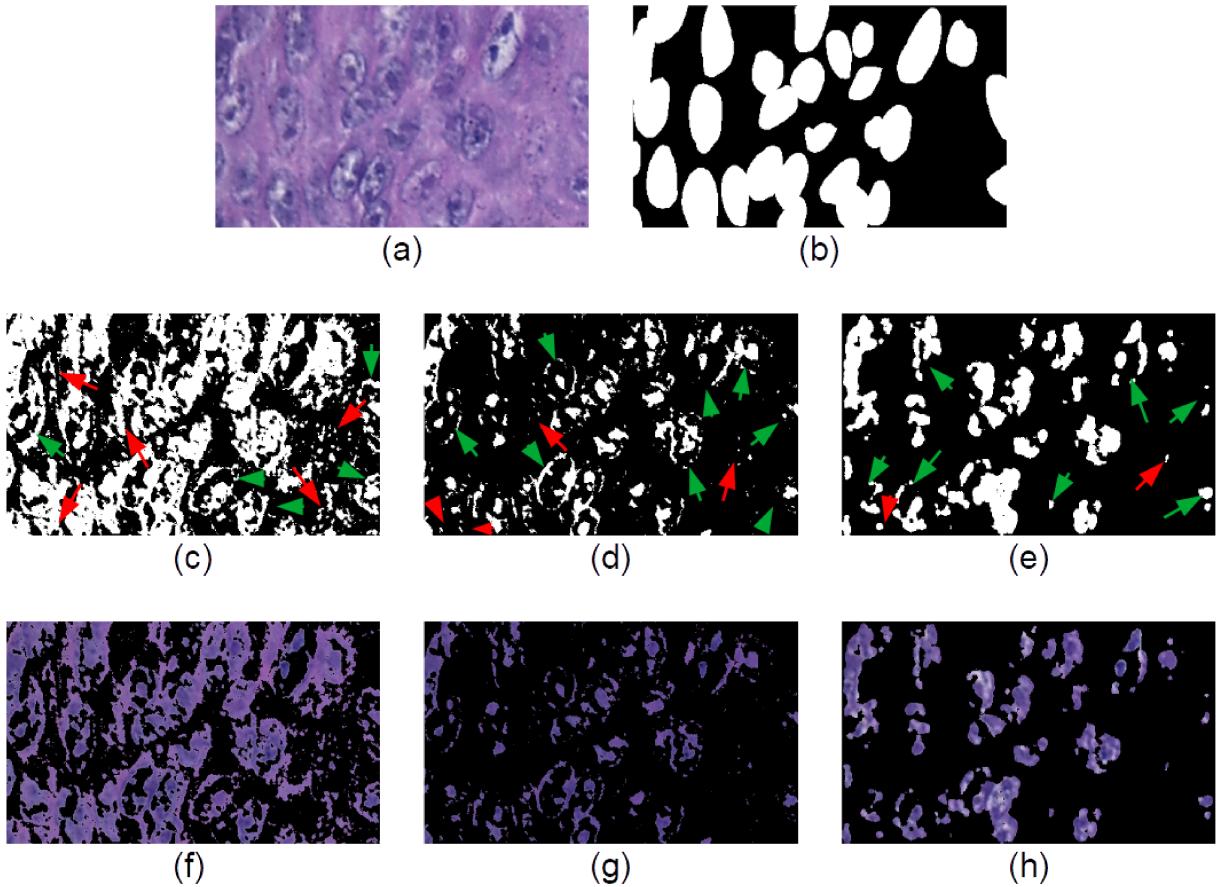


Figura 33 – Resultados da segmentação de uma displasia leve. Em (a) e (b) são apresentadas a imagem original e o padrão-ouro presentes nas Figuras 26(a) e Figuras 26(b), respectivamente. Em (c) e (f) podem ser exibidas a máscara e o resultado final para a segmentação com o método *Otsu*. A máscara e segmentação com o *K-means* são apresentadas em (d) e (g). Já em (e) e (h) os resultados com o método *SegNet* são mostrados. As setas em cor vermelha indicam regiões de FP e as setas na cor verde indicam regiões de FN.

fundo que possuem coloração similar à de núcleos (esses FP são apontados por setas da cor vermelha nas Figuras 34(d) e 35(d)). Por fim, o algoritmo *SegNet* apresentou regiões de FP (indicadas por setas de cor vermelha) nas Figuras 34(e) e 35(e)) e segmentou os núcleos de forma errônea, como é apontado pelas setas de cor verde nas Figuras 34(e) e 35(e)).

A avaliação quantitativa dos resultados obtidos pelo método proposto e por aqueles citados anteriormente foi realizada a partir da comparação com a segmentação no padrão-ouro. Os resultados quantitativos contendo medidas de  $A_C$ ,  $T_C$  e  $D_C$  para o método proposto, *Otsu*, *K-means*, e *SegNet* são apresentados na Tabela 3. No que diz respeito à  $A_C$ , o *Otsu* apresentou  $A_C = 60,78\%$  com desvio padrão de 14,26, o *K-means* obteve  $A_C = 77,32\%$  e desvio padrão de 5,32 e o *SegNet* obteve  $A_C = 73,12$  com desvio padrão de 12,52. Já o método proposto apresentou  $A_C = 89,52\%$  e desvio padrão de 4,46, um resultado 13,63% superior ao resultado mais significativo obtido com o algoritmo *K-means*.

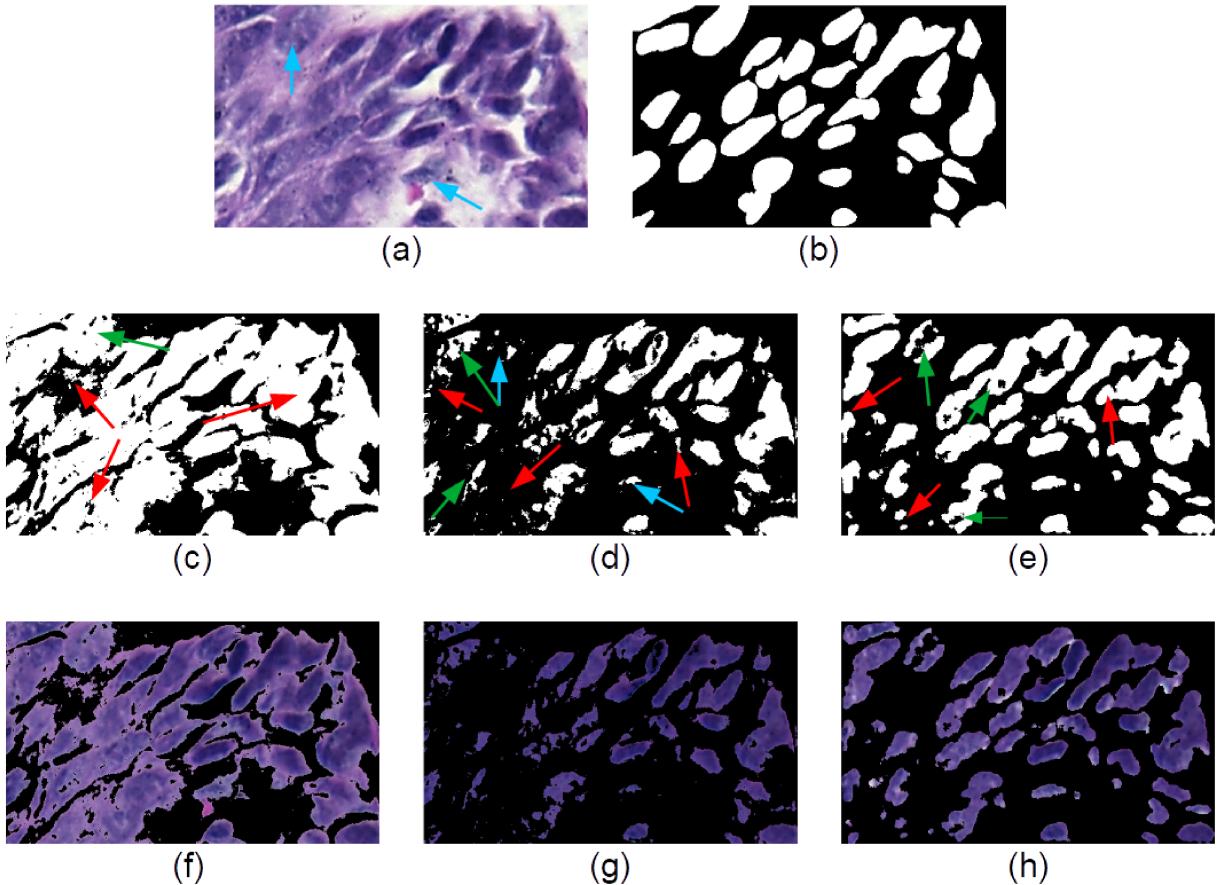


Figura 34 – Resultado de segmentação de uma displasia moderada. Em (a) e (b) são apresentadas a imagem original e o padrão-ouro presentes nas Figuras 27(a) e 27(b), respectivamente. Em (c) e (f) são exibidas a máscara e o resultado para a segmentação com o método *Otsu*. A máscara e segmentação com o *K-means* são apresentadas em (d) e (g). Em (e) e (h) são mostrados os resultados com o método *SegNet*. As setas em cor vermelha indicam regiões de FP e as setas na cor verde indicam FN.

Levando em consideração a medida  $T_C$ , que representa a relação entre os VP de duas imagens, o método *Otsu* obteve  $T_C = 23,57\%$  com desvio padrão de 31,47, o *K-means* apresentou  $T_C = 35,20\%$  com desvio padrão de 11,63 e o algoritmo *SegNet* obteve  $T_C = 40,12\%$  com desvio padrão de 24,02. Em comparação, o método proposto obteve  $T_C = 76,80\%$  e desvio padrão de 10,49, apresentando um valor 47,76% mais relevante ao método *SegNet*.

Numa análise da métrica  $D_C$ , que mede a similaridade entre duas imagens, o *Otsu* apresentou  $D_C = 57,46\%$  com desvio padrão de 12,78, o *K-means* apresentou  $D_C = 52,96\%$  com desvio padrão de 11,70 e o *SegNet* obteve  $D_C = 60,73\%$  com desvio padrão de 16,48. Por sua vez, o método proposto obteve  $D_C = 84,03\%$  com desvio padrão de 06,94. Esse valor é 27,73% mais alto do que o segundo resultado mais significativo obtido pelo *SegNet*.

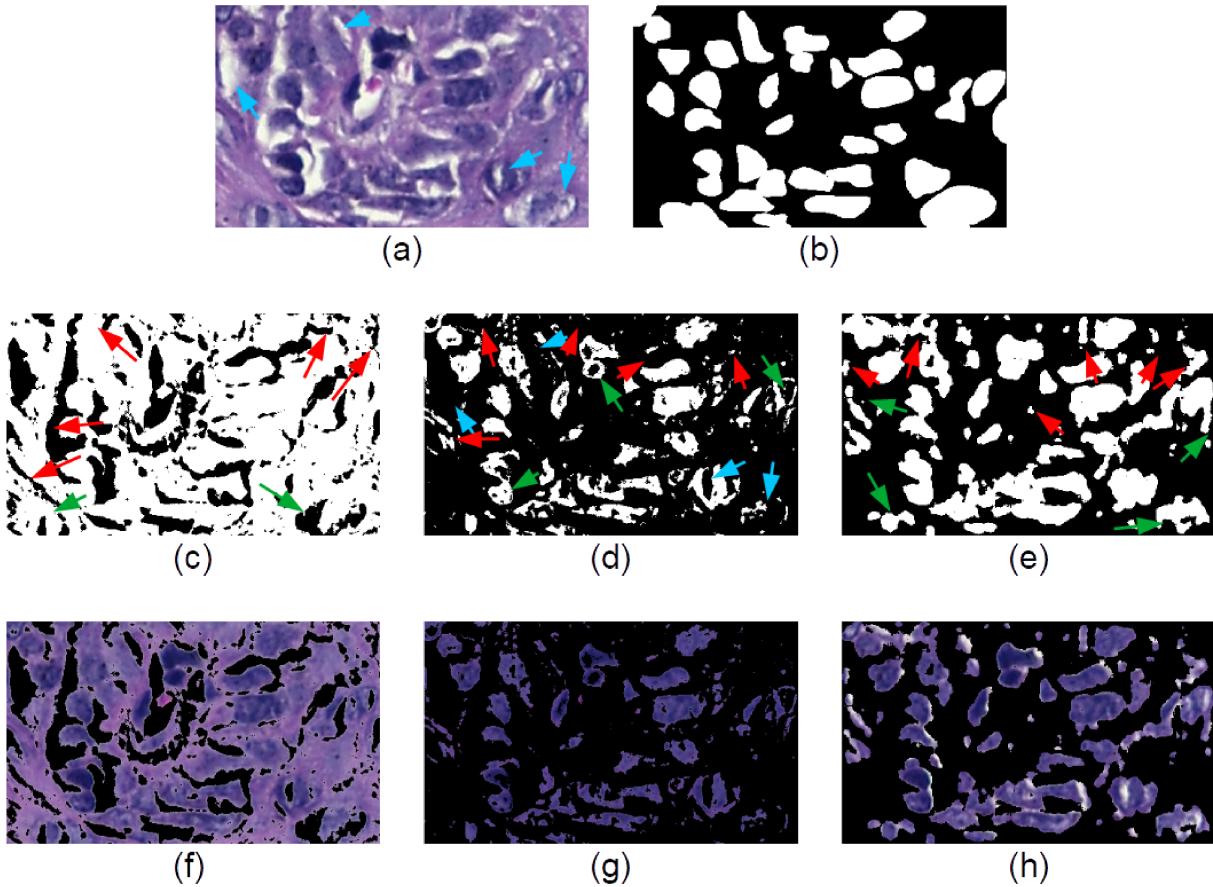


Figura 35 – Resultado de segmentação de uma displasia severa. Em (a) e (b) são apresentadas as imagens original e o padrão-ouro presentes nas Figuras 28(a) e 28(b), respectivamente. Em (c) e (f) são exibidas a máscara e o resultado para a segmentação com o método *Otsu*. A máscara e segmentação com o *K-means* são apresentadas em (d) e (g). Os resultados com o método *SegNet* são mostrados em (e) e (h). As setas em cor vermelha indicam regiões de FP e as setas na cor verde indicam FN.

Tabela 3 – Comparação entre o método proposto e técnicas presentes na literatura.

	$A_C(\%)$	$T_C(\%)$	$D_C(\%)$
<i>Otsu</i>	$60,78 \pm 14,26$	$23,57 \pm 37,47$	$57,46 \pm 12,78$
<i>K-means</i>	$77,32 \pm 05,32$	$35,20 \pm 11,63$	$52,96 \pm 11,70$
<i>SegNet</i>	$73,12 \pm 12,52$	$40,12 \pm 24,02$	$60,73 \pm 16,48$
Método proposto	<b><math>89,52 \pm 04,46</math></b>	<b><math>76,80 \pm 10,49</math></b>	<b><math>84,03 \pm 06,94</math></b>

## 5.4 Análise Quantitativa das Imagens Histológicas da Cavidade Bucal

Com a finalidade de avaliar as diferentes classes de imagens da cavidade bucal em relação aos níveis de displasia, nessa etapa são apresentadas informações sobre uma análise quantitativa. Os valores médios e desvios padrão em relação às informações extraídas dessa etapa estão disponíveis nas Tabelas 8, 9 e 10, contidas no Apêndice A deste trabalho.

Essas informações foram classificadas utilizando o classificador *POL* com validação cruzada com 5 *folds*, de acordo com o trabalho proposto por (KARTHIK; MENAKA, 2017). Os resultados são apresentados nas Tabelas 4 e 5 para os diferentes níveis de classes. Nessas tabelas, são apresentados o número de VP, VN, FP e FN obtidos em cada *fold* nos testes. Os dados foram avaliados para cada combinação de classes, conforme descrito na Seção 4.6.

O classificador obteve médias de *AUC* com 0,94, 0,97 e 0,93 para os conjuntos  $S \times L$ ,  $S \times M$  e  $S \times S_E$ , respectivamente (Tabela 4). O método obteve um valor mais significativo para o conjunto  $S \times M$ , alcançando  $AUC = 1$  no *Fold 3*. Observa-se que o *POL* gerou poucos FN e FP nos *folds* na fase de teste. Para os conjuntos  $L \times M$ ,  $L \times S_E$  e  $M \times S_E$ , o classificador obteve média de 0,88, 0,90 e 0,91, respectivamente (Tabela 5). O grupo  $L \times M$  apresentou o menor valor na classificação dos seis conjuntos, obtendo na média *AUC* de 0,88. Esse valor representa uma diferença de 9% do melhor conjunto,  $S \times M$ . É possível perceber que as imagens de tecidos saudáveis obtiveram melhor desempenho no processo de análise na classificação em relação as imagens displásicas, porém todos os conjuntos mostraram resultados próximos à 0,90.

Tabela 4 – Resultados das classificações  $S \times L$ ,  $S \times M$  e  $S \times S_E$  com uso do classificador *POL*. Em cada linha é apresentada a quantidade de VP, FN, FP e VN obtida em cada *fold*.

Folds	$S \times L$					$S \times M$					$S \times S_E$				
	AUC	VP	FN	FP	VN	AUC	VP	FN	FP	VN	AUC	VP	FN	FP	VN
Fold 1	0,93	14	1	1	13	0,97	14	1	0	15	0,90	13	2	1	14
Fold 2	0,90	14	1	2	13	0,97	14	0	0	15	0,90	14	1	2	13
Fold 3	0,93	14	0	2	13	1,00	15	0	0	15	0,97	14	1	0	14
Fold 4	0,97	14	1	0	15	0,97	15	0	1	14	0,93	14	0	2	13
Fold 5	0,97	15	0	1	14	0,93	14	1	1	13	0,93	14	1	1	14

Tabela 5 – Resultados das classificações  $L \times M$ ,  $L \times S_E$  e  $M \times S_E$  com uso do classificador *POL*.

Folds	$L \times M$					$L \times S_E$					$M \times S_E$				
	AUC	VP	FN	FP	VN	AUC	VP	FN	FP	VN	AUC	VP	FN	FP	VN
Fold 1	0,87	14	1	3	12	0,87	14	1	2	13	0,93	14	1	1	14
Fold 2	0,87	13	2	1	14	0,87	13	2	2	13	0,93	14	0	2	13
Fold 3	0,89	13	1	2	12	0,87	13	2	1	14	0,90	12	3	0	15
Fold 4	0,87	12	3	1	14	0,90	13	2	1	14	0,93	15	0	2	12
Fold 5	0,87	12	3	1	14	0,96	14	0	1	13	0,87	14	1	3	12

Baseado nos resultados obtidos, uma investigação foi realizada com o objetivo de entender as características das imagens que apresentaram erros no processo de classificação. Na Figura 36, são apresentadas as imagens marcadas como FP e FN no *fold 1* da classificação  $L \times M$ . Na imagem da Figura 36(a), é mostrada uma displasia leve que foi erroneamente classificada como moderada, e as Figuras 36(b), 36(c) e 36(d) apresentam displasias moderadas classificadas incorretamente como displasias leves. Observa-se que os núcleos das imagens possuem tamanho semelhante e que uma parcela significativa dos objetos apresentam tons claros perto das bordas e níveis mais escuros próximo ao centro.

Esse padrão presente nessas imagens pode ser a causa do erro no processo de quantificação das imagens.

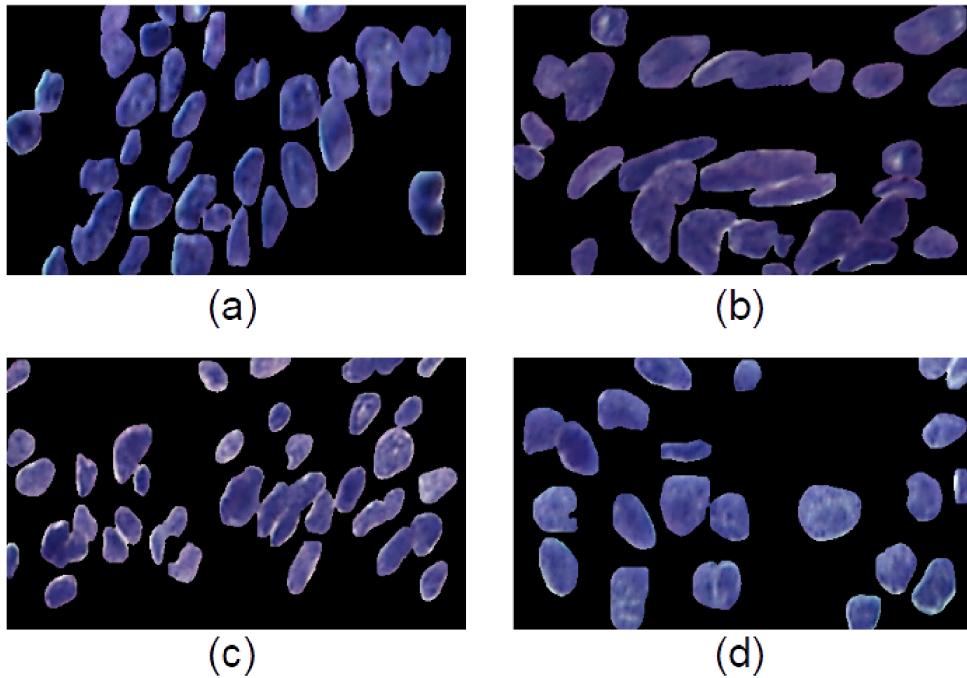


Figura 36 – Imagens classificadas erroneamente no *fold* 1 da classificação  $L \times M$ : (a) displasia leve, (b), (c) e (d) displasias moderadas.

Também foram aplicados algoritmos clássicos de classificação presentes na literatura para avaliação das informações extraídas. Os algoritmos de *Árvore de Decisão*, *Random Forests* e *Multilayer Perceptron* foram treinados com os vetores de características das imagens para cada combinação de classes, baseado no trabalho (NASCIMENTO et al., 2013). Na Tabela 6, é apresentada a comparação dos valores de *AUC* obtidas por esses métodos.

Tabela 6 – Comparação dos resultados obtidos pelo *POL* e pelos algoritmos *Multilayer Perceptron*, *Árvore de Decisão* e *Random Forests*.

Sets	Classificadores			
	POL	Multilayer Perceptron	Árvore de Decisão	Random Forests
$S \times L$	<b><math>0,94 \pm 0,03</math></b>	<b><math>0,94 \pm 0,04</math></b>	$0,74 \pm 0,08$	$0,91 \pm 0,04$
$S \times M$	<b><math>0,97 \pm 0,03</math></b>	$0,89 \pm 0,03$	$0,81 \pm 0,06$	$0,92 \pm 0,05$
$S \times S_E$	<b><math>0,93 \pm 0,03</math></b>	<b><math>0,93 \pm 0,06</math></b>	$0,82 \pm 0,07$	$0,86 \pm 0,07$
$L \times M$	<b><math>0,88 \pm 0,02</math></b>	$0,73 \pm 0,13$	$0,66 \pm 0,11$	$0,76 \pm 0,07$
$L \times S_E$	<b><math>0,90 \pm 0,04</math></b>	$0,85 \pm 0,04$	$0,79 \pm 0,09$	$0,85 \pm 0,06$
$M \times S_E$	<b><math>0,91 \pm 0,03</math></b>	$0,82 \pm 0,07$	$0,64 \pm 0,07$	$0,77 \pm 0,14$
Média	<b><math>0,92 \pm 0,03</math></b>	$0,86 \pm 0,06$	$0,74 \pm 0,08$	$0,84 \pm 0,07$

O *Multilayer Perceptron* obteve o resultado menos significativo na classificação  $L \times M$  (0,73) e o mais relevante na  $S \times L$  (0,94), sendo esse o mesmo valor obtido pelo *POL*. Observa-se que esse classificador apresentou variação média de 0,06 em seus resultados. Na aplicação da *Árvore de Decisão*, os menores valores de *AUC* ficaram entre o intervalo de 0,64 ( $M \times S_E$ ) e 0,82 ( $S \times S_E$ ). O algoritmo *Random Forests* obteve *AUC* variando entre

0,76 ( $L \times M$ ) e 0,92 ( $S \times M$ ) e variação média de 0,07. O classificador *POL* proporcionou *AUC* 6,5% maior do que o *Multilayer Perceptron*, 8,7% maior do que o *Random Forests* e 19,5% maior que a *Árvore de Decisão*, o que mostra relevantes resultados para classificação das displasias em imagens da cavidade bucal.

A Tabela 7 apresenta os resultados dos métodos apresentados para a segmentação e classificação de núcleos em imagens histológicas da cavidade bucal na literatura. Esses trabalhos investigaram imagens histológicas de lesões malignas, mas não trabalharam com lesões pré-cancerosas. Os bancos de imagens utilizados nesses estudos são diferentes do conjunto utilizado neste trabalho. Então, esse trabalho corrobora com os estudos da área permitindo fornecer uma nova metodologia para a análise e classificação de lesões pré-cancerosas em imagens da cavidade bucal.

Tabela 7 – Resultados obtidos em métodos de segmentação e classificação de tecidos histológicos da cavidade bucal e da metodologia proposta.

Referência	Segmentação	Classificador	Res. Segmentação	Res. Classificação
(KRISHNAN et al., 2011)	Agrupamento de regiões.	SVM	Não informado	Acurácia de 91,67%, 85,71% e 87,76% na classificação de núcleos normais, FSO sem displasia e FSO com displasia, respectivamente.
(KRISHNAN et al., 2012)	<i>Fuzzy divergence, parabola fitting, watershed, deconvolução de cores e GVF snakes.</i>	Classificador bayesiano, SVM, <i>k-means clustering, fuzzy c-means</i> e GMM.	Não informado	$A_C$ de 99,6%.
(BAIK et al., 2014)	-	<i>Random Forests</i>	-	$A_C$ de 80,6%.
(BANERJEE et al., 2015)	-	SVM linear; SVM quadrático.		$A_C$ de 89,7%.
(DAS et al., 2015)	<i>Active contour snake model</i>	Caracterização de carcinoma baseado na porcentagem de queratina presente na imagem.	$A_C = 95,08\%$ .	Não informado
(CHOUDHURY et al., 2016)	-	<i>Multilayer Perceptron, SL e RBFN.</i>	-	$A_C = 99,82\%$ para o <i>Multilayer Perceptron</i> . $A_C = 99,78\%$ para o <i>SL</i> . $A_C = 93,46\%$ para o <i>RBFN</i> .
(DAS et al., 2018)	RNC, <i>Random Forest</i> .	-	$A_C = 98,42\%$ na segmentação da camada epitelial e $A_C = 98,05\%$ na segmentação de regiões queratinizadas.	-
Metodologia Proposta	<i>Mask R-CNN</i>	POL	$A_C = 89,52\%$	$AUC = 0,92$ .

# CAPÍTULO 6

## Conclusão

Este trabalho apresentou um método para quantização baseado em etapas de segmentação e classificação de núcleos em imagens histológicas de displasias da cavidade bucal. Para a etapa de segmentação, uma RNC foi treinada para aprender as características importantes da região de núcleos em diversos níveis de displasia. O uso dessa RNC permitiu a segmentação de regiões de presença de núcleo nos diversos grupos de displasia. Na etapa de pós-processamento, foram empregadas as operações morfológicas de dilatação, preenchimento de regiões e erosão para correção da forma dos núcleos e o preenchimento de regiões de falso-negativo. Essa etapa ainda permitiu a remoção de regiões com área menor que 30 *pixels*. O método de segmentação foi avaliado de maneira quantitativa em comparação com imagens de padrão-ouro geradas por um especialista mostrando acurácia de 89,52%.

A segmentação apresentou regiões de falso-positivo, principalmente em regiões com grânulos de pigmentação ou partes de tecido claras. Isso mostra que é necessária a exploração de métodos de pré-processamento para eliminar essas regiões antes da aplicação da rede neural. O método apresenta, também, valores mais baixos no processo de diferenciação entre displasias de classe moderada com as displasias leve e severa. Todos os classificadores apresentam esse comportamento. Dessa forma, é necessário estudar se o uso de outros tipos características trazem resultados mais precisos.

Na etapa de extração de características, informações de entropia, *Índice Moran*, área, excentricidade, perímetro, orientação e solidez foram computadas para cada núcleo presente nas imagens. Na etapa de classificação, o algoritmo *POL* permitiu investigar as combinações entre as classes. O método obteve resultados significativos para a diferenciação das classes, apresentando valor de *AUC* igual a 0,92.

A implementação do sistema computacional permitiu a identificação e análise dos núcleos celulares presentes nas imagens histológicas. Os resultados obtidos foram relevantes e mostram que a metodologia apresentada neste trabalho pode ser utilizada como forma de auxiliar especialistas da área da saúde a estudar e analisar lesões displásicas.

## 6.1 Principais Contribuições

Uma contribuição importante resultante deste trabalho é a criação de um banco de imagens histológicas da região da boca com imagens de tecidos com os três níveis de displasia e tecidos saudáveis. Imagens de padrão-ouro foram geradas por um especialista da área e podem ser utilizadas como referência para avaliar métodos de segmentação. Esse banco pode ser utilizado como base para estudos sobre lesões com potencial maligno.

O método desenvolvido apresentou uma etapa de segmentação considerada significativa como as métricas quantitativas empregadas para análise das classes de displasia. Com o uso da metodologia proposta, foi possível segmentar núcleos borrados, com baixo contraste em relação ao fundo e com aspecto irregulares. A metodologia proporcionou resultados relevantes em relação ao formato dos núcleos conforme avaliação junto às regiões demarcadas pelo especialista. O uso do classificador contribuiu na quantificação das lesões baseada no grupo de características extraídas permitindo diferenciar os tipos de displasias. A metodologia apresentada neste trabalho pode ser utilizada como uma ferramenta para auxiliar especialistas na análise de categorização de displasias.

A metodologia proposta contribui para o estado da arte de processamento de imagens de displasias orais. Não foram encontrados na literatura trabalhos que abordem métodos automatizados para diagnóstico de lesões ocorridas pelas displasias. Além disso, o trabalho mostra que é possível identificar esse tipo de lesão com propriedades nucleares não considerando apenas o tamanho da lesão.

## 6.2 Trabalhos Futuros

Trabalhos futuros a partir deste projeto podem abordar maneiras de otimizar a metodologia apresentada. Para isso, em trabalhos futuros pretende-se estudar técnicas de pré-processamento com o objetivo de reduzir o impacto que regiões com excesso ou falta de pigmentação podem causar na segmentação.

Outros estudos podem ser gerados a partir deste trabalho, como a aplicação da metodologia em imagens com magnificação maior do que 400X e, também, em imagens displásicas de outras regiões do corpo. Pretende-se, também, em trabalhos futuros, estudar a aplicação da metodologia como ferramenta para diagnóstico de outros tipos de lesões pré-câncer.

## 6.3 Contribuições em Produção Bibliográfica

- ❑ Silva, A. B., Martins, A. S., Neves, L. A., Faria, P. R., Tosta, T. A. A., Nascimento, M. Z. Automated Nuclei Segmentation in Dysplastic Histopathological Oral Tis-

sues Using Deep Neural Networks. **24th Iberoamerican Congress on Pattern Recognition (CIARP)**, 2019. (Aceito para publicação).



---

## Referências

- ABBEY, L. M. et al. Intraexaminer and interexaminer reliability in the diagnosis of oral epithelial dysplasia. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, Elsevier, v. 80, n. 2, p. 188–191, 1995. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S1079-2104\(05\)80201-X](https://doi.org/10.1016/S1079-2104(05)80201-X)>.
- AGARAP, A. F. Deep learning using rectified linear units (relu). **arXiv preprint arXiv:1803.08375**, 2018.
- AMIN, M. M. et al. Recognition of acute lymphoblastic leukemia cells in microscopic images using k-means clustering and support vector machine classifier. **Journal of medical signals and sensors**, Wolters Kluwer–Medknow Publications, v. 5, n. 1, p. 49, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.4103/2228-7477.150428>>.
- ARAÚJO, F. H. D. Convnets na caracterização, recuperação e ranqueamento de células. **Universidade Federal do Ceará**, 2018.
- BADRINARAYANAN, V.; KENDALL, A.; CIPOLLA, R. Segnet: A deep convolutional encoder-decoder architecture for image segmentation. **IEEE transactions on pattern analysis and machine intelligence**, IEEE, v. 39, n. 12, p. 2481–2495, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1109/TPAMI.2016.2644615>>.
- BAIK, J. et al. Automated classification of oral premalignant lesions using image cytometry and random forests-based algorithms. **Cellular Oncology**, Springer, v. 37, n. 3, p. 193–202, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13402-014-0172-x>>.
- BANERJEE, S. et al. Fourier-transform-infrared-spectroscopy based spectral-biomarker selection towards optimum diagnostic differentiation of oral leukoplakia and cancer. **Analytical and bioanalytical chemistry**, Springer, v. 407, n. 26, p. 7935–7943, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00216-015-8960-3>>.
- BARATLOO, A. et al. Part 1: simple definition and calculation of accuracy, sensitivity and specificity. **Emergency**, v. 3, n. 2, p. 48–49, 2015.
- BAYRAMOGLU, N.; HEIKKILÄ, J. Transfer learning for cell nuclei classification in histopathology images. In: SPRINGER. **European Conference on Computer Vision**. [S.l.], 2016. p. 532–539.

BEJNORDI, B. E. et al. A multi-scale superpixel classification approach to the detection of regions of interest in whole slide histopathology images. In: INTERNATIONAL SOCIETY FOR OPTICS AND PHOTONICS. **SPIE Medical Imaging**. 2015. p. 94200H–94200H. Disponível em: <<https://doi.org/10.1117/12.2081768>>.

BELSARE, A.; MUSHRIF, M. Histopathological image analysis using image processing techniques: An overview. **Signal & Image Processing**, Academy & Industry Research Collaboration Center (AIRCC), v. 3, n. 4, p. 23, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.5121/sipij.2012.3403>>.

BELSARE, A. et al. Breast histopathology image segmentation using spatio-colour-texture based graph partition method. **Journal of microscopy**, Wiley Online Library, v. 262, n. 3, p. 260–273, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/jmi.12361>>.

BOROVEC, J. Fully automatic segmentation of stained histological cuts. In: **International Student Conference on Electrical Engineering**. [S.l.: s.n.], 2013. v. 17, p. 1–7.

CHEN, C. L. et al. Deep learning in label-free cell classification. **Scientific reports**, Nature Publishing Group, v. 6, p. 21471, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/srep21471>>.

CHOUDHURY, T. et al. Intelligent classification of lung & oral cancer through diverse data mining algorithms. In: IEEE. **2016 International Conference on Micro-Electronics and Telecommunication Engineering (ICMete)**. 2016. p. 133–138. Disponível em: <<https://doi.org/10.1109/ICMete.2016.24>>.

CUN, Y. L. et al. Handwritten digit recognition: Applications of neural network chips and automatic learning. **IEEE Communications Magazine**, IEEE, v. 27, n. 11, p. 41–46, 1989. Disponível em: <<https://doi.org/10.1109/35.41400>>.

DAS, D. K. et al. Automatic identification of clinically relevant regions from oral tissue histological images for oral squamous cell carcinoma diagnosis. **Tissue and Cell**, Elsevier, v. 53, p. 111–119, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tice.2018.06.004>>.

\_\_\_\_\_. Automated identification of keratinization and keratin pearl area from in situ oral histological images. **Tissue and Cell**, Elsevier, v. 47, n. 4, p. 349–358, 2015.

DEY, S. et al. Pre-cancer risk assessment in habitual smokers from dic images of oral exfoliative cells using active contour and svm analysis. **Tissue and Cell**, Elsevier, v. 49, n. 2, p. 296–306, 2017.

FARIA, P. R. de et al. Absence of galectin-3 does not affect the development of experimental tongue carcinomas in mice. **Experimental and molecular pathology**, Elsevier, v. 90, n. 2, p. 189–193, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2010.12.007>>.

FONSECA-SILVA, T. et al. Association between histopathological features of dysplasia in oral leukoplakia and loss of heterozygosity. **Histopathology**, Wiley Online Library, v. 68, n. 3, p. 456–460, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/his.12746>>.

GARTNER, L. P. **Tratado de Histologia Em Cores**. [S.l.]: Elsevier Brasil, 2007.

- GIRSHICK, R. Fast r-cnn. In: **Proceedings of the IEEE international conference on computer vision**. [S.l.: s.n.], 2015. p. 1440–1448.
- GONGAS, L.; MORENO, A. M.; BRAVO, L. M. Automated diagnosis of breast cancer based on histological images. In: **IEEE. 2018 IX International Seminar of Biomedical Engineering (SIB)**. 2018. p. 1–6. Disponível em: <<https://doi.org/10.1109/SIB.2018.8467730>>.
- GONZALEZ, R. C.; WOODS, R. **Processamento Digital de Imagens**. [S.l.]: Pearson Prentice Hall, 2010.
- GOODFELLOW, I.; BENGIO, Y.; COURVILLE, A. **Deep Learning**. [S.l.]: MIT Press, 2016. <<http://www.deeplearningbook.org>>.
- GUO, P. et al. Nuclei-based features for uterine cervical cancer histology image analysis with fusion-based classification. **IEEE journal of biomedical and health informatics**, IEEE, v. 20, n. 6, p. 1595–1607, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1109/JBHI.2015.2483318>>.
- HAHNLOSER, R. H. et al. Digital selection and analogue amplification coexist in a cortex-inspired silicon circuit. **Nature**, Nature Publishing Group, v. 405, n. 6789, p. 947, 2000. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/35016072>>.
- HAMEED, K. S.; BANUMATHI, A.; ULAGANATHAN, G. P53immunostained cell nuclei segmentation in tissue images of oral squamous cell carcinoma. **Signal, Image and Video Processing**, Springer, v. 11, n. 2, p. 363–370, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11760-016-0953-y>>.
- HANLEY, J. A.; MCNEIL, B. J. The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (roc) curve. **Radiology**, v. 143, n. 1, p. 29–36, 1982. Disponível em: <<https://doi.org/10.1148/radiology.143.1.7063747>>.
- HANNEN, E. J. et al. An image analysis study on nuclear morphology in metastasized and non-metastasized squamous cell carcinomas of the tongue. **The Journal of pathology**, Wiley Online Library, v. 185, n. 2, p. 175–183, 1998. Disponível em: <[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9896\(199806\)185:2<175::AID-PATH69>3.0.CO;2-U](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9896(199806)185:2<175::AID-PATH69>3.0.CO;2-U)>.
- HAYKIN, S. **Neural networks: a comprehensive foundation**. [S.l.]: Prentice Hall PTR, 1994.
- HAYKIN, S. S. et al. **Neural networks and learning machines**. [S.l.]: Pearson education Upper Saddle River, 2009. v. 3.
- HE, K. et al. Mask r-cnn. In: **Proceedings of the IEEE international conference on computer vision**. [s.n.], 2017. p. 2961–2969. Disponível em: <<https://doi.org/10.1109/ICCV.2017.322>>.
- \_\_\_\_\_. Deep residual learning for image recognition. In: **Proceedings of the IEEE conference on computer vision and pattern recognition**. [s.n.], 2016. p. 770–778. Disponível em: <<https://doi.org/10.1109/CVPR.2016.90>>.

HUYNH, B. Q.; LI, H.; GIGER, M. L. Digital mammographic tumor classification using transfer learning from deep convolutional neural networks. **Journal of Medical Imaging**, International Society for Optics and Photonics, v. 3, n. 3, p. 034501, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1117/1.JMI.3.3.034501>>.

INCA. Estimativa 2018: Incidência de câncer no brasil. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, Ministério da Saúde, 2017.

IRSHAD, H. et al. Methods for nuclei detection, segmentation, and classification in digital histopathology: a review—current status and future potential. **IEEE reviews in biomedical engineering**, IEEE, v. 7, p. 97–114, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1109/RBME.2013.2295804>>.

JADER, G. et al. Deep instance segmentation of teeth in panoramic x-ray images. In: **IEEE. 2018 31st SIBGRAPI Conference on Graphics, Patterns and Images (SIBGRAPI)**. 2018. p. 400–407. Disponível em: <<https://doi.org/10.1109/SIBGRAPI.2018.00058>>.

JANSSENS, T. et al. Charisma: An integrated approach to automatic h&e-stained skeletal muscle cell segmentation using supervised learning and novel robust clump splitting. **Medical image analysis**, Elsevier, v. 17, n. 8, p. 1206–1219, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.media.2013.07.007>>.

JARRETT, K. et al. What is the best multi-stage architecture for object recognition? In: **IEEE. 2009 IEEE 12th international conference on computer vision**. 2009. p. 2146–2153. Disponível em: <<https://doi.org/10.1109/ICCV.2009.5459469>>.

JOHNSON, K. **Histology and Cell Biology**. [S.l.]: Harwal Publishing Company, 1991. (A Williams&Wilkins medical publication). ISBN 9780683062106.

JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. **Histologia básica: texto e atlas**. [S.l.]: Guanabara Koogan, 2013.

KARTHIK, R.; MENAKA, R. A multi-scale approach for detection of ischemic stroke from brain mr images using discrete curvelet transformation. **Measurement**, Elsevier, v. 100, p. 223–232, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.measurement.2017.01.001>>.

KLEPPE, A. et al. Chromatin organisation and cancer prognosis: a pan-cancer study. **The Lancet Oncology**, Elsevier, v. 19, n. 3, p. 356–369, 2018. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)30899-9](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(17)30899-9)>.

KRISHNAN, M. M. R. et al. Hybrid segmentation, characterization and classification of basal cell nuclei from histopathological images of normal oral mucosa and oral submucous fibrosis. **Expert Systems with Applications**, Elsevier, v. 39, n. 1, p. 1062–1077, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.eswa.2011.07.107>>.

\_\_\_\_\_. Texture based segmentation of epithelial layer from oral histological images. **Micron**, Elsevier, v. 42, n. 6, p. 632–641, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.micron.2011.03.003>>.

\_\_\_\_\_. Automated classification of cells in sub-epithelial connective tissue of oral sub-mucous fibrosis—an svm based approach. **Computers in biology and medicine**, Elsevier, v. 39, n. 12, p. 1096–1104, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.compbiomed.2009.09.004>>.

- \_\_\_\_\_. Textural characterization of histopathological images for oral sub-mucous fibrosis detection. **Tissue and Cell**, Elsevier, v. 43, n. 5, p. 318–330, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tice.2011.06.005>>.
- \_\_\_\_\_. Automated characterization of sub-epithelial connective tissue cells of normal oral mucosa: Bayesian approach. In: **IEEE. Students' Technology Symposium (TechSym), 2010 IEEE**. [S.l.], 2010. p. 44–48.
- KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; ASTER, J. C. **Robbins patologia básica**. 9. ed. [S.l.]: Elsevier Brasil, 2013.
- KUMAR, V.; ASTER, J. C.; ABBAS, A. **Robbins and Cotran Patologia-Bases Patológicas das Doenças**. [S.l.]: Elsevier Brasil, 2010.
- LONG, J.; SHELHAMER, E.; DARRELL, T. Fully convolutional networks for semantic segmentation. In: **Proceedings of the IEEE conference on computer vision and pattern recognition**. [s.n.], 2015. p. 3431–3440. Disponível em: <<https://doi.org/10.1109/CVPR.2015.7298965>>.
- LUMERMAN, H.; FREEDMAN, P.; KERPEL, S. Oral epithelial dysplasia and the development of invasive squamous cell carcinoma. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, Elsevier, v. 79, n. 3, p. 321–329, 1995. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S1079-2104\(05\)80226-4](https://doi.org/10.1016/S1079-2104(05)80226-4)>.
- MA, Z. et al. Automated nasopharyngeal carcinoma segmentation in magnetic resonance images by combination of convolutional neural networks and graph cut. **Experimental and therapeutic medicine**, Spandidos Publications, v. 16, n. 3, p. 2511–2521, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.3892/etm.2018.6478>>.
- MACQUEEN, J. et al. Some methods for classification and analysis of multivariate observations. In: OAKLAND, CA, USA. **Proceedings of the fifth Berkeley symposium on mathematical statistics and probability**. [S.l.], 1967. v. 1, n. 14, p. 281–297.
- MARTINS, R. G. et al. Exploring polynomial classifier to predict match results in football championships. **Expert Systems with Applications**, Elsevier, v. 83, p. 79–93, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.eswa.2017.04.040>>.
- MATAN, O. et al. Multi-digit recognition using a space displacement neural network. In: **Advances in neural information processing systems**. [S.l.: s.n.], 1992. p. 488–495.
- MCGREGOR, F. et al. Molecular changes associated with oral dysplasia progression and acquisition of immortality. **Cancer Research**, AACR, v. 62, n. 16, p. 4757–4766, 2002.
- MEHANNA, H. M. et al. Treatment and follow-up of oral dysplasia—a systematic review and meta-analysis. **Head & Neck: Journal for the Sciences and Specialties of the Head and Neck**, Wiley Online Library, v. 31, n. 12, p. 1600–1609, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/hed.21131>>.
- MEJBRI, S. et al. Deep analysis of cnn settings for new cancer whole-slide histological images segmentation: the case of small training sets. In: **6th International conference on BioImaging (BIOIMAGING 2019)**. [s.n.], 2019. p. 120–128. Disponível em: <<https://doi.org/10.5220/0007406601200128>>.

MENDONÇA, D. F. et al. The inactive form of glycogen synthase kinase-3 $\beta$  is associated with the development of carcinomas in galectin-3 wild-type mice, but not in galectin-3-deficient mice. **International journal of clinical and experimental pathology**, e-Century Publishing Corporation, v. 5, n. 6, p. 547, 2012.

METZ, C. E. Basic principles of roc analysis. In: ELSEVIER. **Seminars in nuclear medicine**. 1978. v. 8, n. 4, p. 283–298. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0001-2998\(78\)80014-2](https://doi.org/10.1016/S0001-2998(78)80014-2)>.

MILLETARI, F.; NAVAB, N.; AHMADI, S.-A. V-net: Fully convolutional neural networks for volumetric medical image segmentation. In: IEEE. **2016 Fourth International Conference on 3D Vision (3DV)**. 2016. p. 565–571. Disponível em: <<https://doi.org/10.1109/3DV.2016.79>>.

NAIR, V.; HINTON, G. E. Rectified linear units improve restricted boltzmann machines. In: **Proceedings of the 27th international conference on machine learning (ICML-10)**. [S.l.: s.n.], 2010. p. 807–814.

NASCIMENTO, M. Z. D. et al. Classification of masses in mammographic image using wavelet domain features and polynomial classifier. **Expert Systems with Applications**, Elsevier, v. 40, n. 15, p. 6213–6221, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.eswa.2013.04.036>>.

OLIVEIRA, D. L. L. D. et al. Unsupervised segmentation method for cuboidal cell nuclei in histological prostate images based on minimum cross entropy. **Expert Systems with Applications**, Elsevier, v. 40, n. 18, p. 7331–7340, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.eswa.2013.06.079>>.

OTSU, N. A threshold selection method from gray-level histograms. **IEEE transactions on systems, man, and cybernetics**, IEEE, v. 9, n. 1, p. 62–66, 1979. Disponível em: <<https://doi.org/10.1109/TSMC.1979.4310076>>.

ROHATGI, N. et al. Smokeless tobacco (khaini) extracts modulate gene expression in epithelial cell culture from an oral hyperplasia. **Oral oncology**, Elsevier, v. 41, n. 8, p. 806–820, 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2005.04.010>>.

RONNEBERGER, O.; FISCHER, P.; BROX, T. U-net: Convolutional networks for biomedical image segmentation. In: SPRINGER. **International Conference on Medical image computing and computer-assisted intervention**. 2015. p. 234–241. Disponível em: <[https://doi.org/10.1007/978-3-319-24574-4\\_28](https://doi.org/10.1007/978-3-319-24574-4_28)>.

RUUSUVUORI, P. et al. Feature-based analysis of mouse prostatic intraepithelial neoplasia in histological tissue sections. **Journal of pathology informatics**, Wolters Kluwer-Medknow Publications, v. 7, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.4103/2153-3539.175378>>.

SANT'ANA, J. M. D. A. et al. Activation of the wnt/beta-catenin signaling pathway during oral carcinogenesis process is not influenced by the absence of galectin-3 in mice. **Anticancer research**, International Institute of Anticancer Research, v. 31, n. 9, p. 2805–2811, 2011.

- SMITH, J. et al. Biomarkers in dysplasia of the oral cavity: a systematic review. **Oral oncology**, Elsevier, v. 45, n. 8, p. 647–653, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2009.02.006>>.
- SOLOMON, C.; BRECKON, T. **Fundamentos de processamento digital de imagens: uma abordagem prática com exemplos em Matlab**. [S.l.]: Grupo Gen-LTC, 2000.
- SOUZA, M. V. R. de et al. Expression of apc protein during tongue malignant transformation in galectin-3-deficient mice challenged by the carcinogen 4-nitroquinaline-n-oxide. **International journal of clinical and experimental pathology**, e-Century Publishing Corporation, v. 7, n. 6, p. 3255, 2014.
- SUNDSTROM, A. et al. Histological image processing features induce a quantitative characterization of chronic tumor hypoxia. **PloS one**, Public Library of Science, v. 11, n. 4, p. e0153623, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153623>>.
- TANG, J.; LI, J.; XU, X. Segnet-based gland segmentation from colon cancer histology images. In: IEEE. **2018 33rd Youth Academic Annual Conference of Chinese Association of Automation (YAC)**. 2018. p. 1078–1082. Disponível em: <<https://doi.org/10.1109/YAC.2018.8406531>>.
- TANG, X.-H. et al. Oral cavity and esophageal carcinogenesis modeled in carcinogen-treated mice. **Clinical Cancer Research**, AACR, v. 10, n. 1, p. 301–313, 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-0999-3>>.
- TOKIME, R. B.; ELASSADY, H.; AKHLOUFI, M. A. Identifying the cells' nuclei using deep learning. In: IEEE. **2018 IEEE Life Sciences Conference (LSC)**. 2018. p. 61–64. Disponível em: <<https://doi.org/10.1109/LSC.2018.8572248>>.
- TRAN, P. V. A fully convolutional neural network for cardiac segmentation in short-axis mri. **arXiv preprint arXiv:1604.00494**, 2016.
- WARNAKULASURIYA, S. et al. Oral epithelial dysplasia classification systems: predictive value, utility, weaknesses and scope for improvement. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, Wiley Online Library, v. 37, n. 3, p. 127–133, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.2007.00584.x>>.
- WILD, C. P.; STEWART, B. W. **World Cancer Report 2014**. [S.l.]: World Health Organization, 2014.
- XU, Y. et al. Segmentation of digitized histological sections for quantification of the muscularized vasculature in the mouse hind limb. **Journal of microscopy**, Wiley Online Library, v. 266, n. 1, p. 89–103, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/jmi.12522>>.



# Apêndices



## APÊNDICE A

---

### **Características utilizadas para classificação entre lesões displásicas**

As Tabelas 8, 9 e 10 apresentam os valores de média e desvio padrão para os vetores de características extraídas das imagens. Esses valores são apresentados para cada combinação possível entre duas classes. Afim de investigar quais características são relevantes no processo de diferenciação das classes, o *t-test* é empregado em cada combinação para comparar as características e a calcular a probabilidade de significância *p*, com base no trabalho proposto por (KARTHIK; MENAKA, 2017).

Por essas tabelas, observa-se valores significativos para diferenciação de classes nos valores de média das características de entropia  $3x3$  e Índice Moran, bem como no desvio padrão da característica de área, onde esses atributos apresentam valores inferiores a 0,01.

Tabela 8 – Informações estatísticas de média e desvio padrão para as características de Entropia nas escalas  $3 \times 3$ ,  $5 \times 5$ ,  $7 \times 7$  e  $9 \times 9$ .

Característica	$S \times L$	$S \times M$	$S \times S_E$	$L \times M$	$L \times S_E$	$M \times S_E$
Entropia $3 \times 3$	<b>Média</b> Saudável 2,15 Leve 2,11 $p = 0,1064$ <b>Desv.</b> Saudável 0,06 Leve 0,12 $p = 0,6400$	<b>Média</b> Saudável 2,15 Moderada 2,09 $p = 0,0001$ <b>Desv.</b> Saudável 0,06 Moderada 0,10 $p = 0,0375$	<b>Média</b> Saudável 2,15 Severa 2,07 $p = 0,0001$ <b>Desv.</b> Saudável 0,06 Severa 0,10 $p = 0,0027$	<b>Média</b> Leve 2,11 Moderada 2,09 $p = 0,0175$ <b>Desv.</b> Leve 0,12 Moderada 0,10 $p = 0,0074$	<b>Média</b> Leve 2,11 Severa 2,07 $p = 0,0027$ <b>Desv.</b> Leve 0,12 Severa 0,10 $p = 0,0023$	<b>Média</b> Moderada 2,09 Severa 2,07 $p = 0,2193$ <b>Desv.</b> Moderada 0,10 Severa 0,10 $p = 0,2455$
Entropia $5 \times 5$	<b>Média</b> Saudável 3,07 Leve 2,99 $p = 0,0819$ <b>Desv.</b> Saudável 0,97 Leve 0,19 $p = 0,4878$	<b>Média</b> Saudável 3,07 Moderada 2,96 $p = 0,0001$ <b>Desv.</b> Saudável 0,97 Moderada 0,15 $p = 0,0520$	<b>Média</b> Saudável 3,07 Severa 2,94 $p = 0,0001$ <b>Desv.</b> Saudável 0,97 Severa 0,14 $p = 0,0047$	<b>Média</b> Leve 2,99 Moderada 2,96 $p = 0,0179$ <b>Desv.</b> Leve 0,19 Moderada 0,15 $p = 0,0066$	<b>Média</b> Leve 2,99 Severa 2,94 $p = 0,0052$ <b>Desv.</b> Leve 0,95 Severa 0,14 $p = 0,0028$	<b>Média</b> Moderada 2,96 Severa 2,94 $p = 0,3438$ <b>Desv.</b> Moderada 0,15 Severa 0,14 $p = 0,2784$
Entropia $7 \times 7$	<b>Média</b> Saudável 3,62 Leve 3,53 $p = 0,0676$ <b>Desv.</b> Saudável 0,12 Leve 0,23 $p = 0,3860$	<b>Média</b> Saudável 3,62 Moderada 3,49 $p = 0,0001$ <b>Desv.</b> Saudável 0,12 Moderada 0,18 $p = 0,0714$	<b>Média</b> Saudável 3,62 Severa 3,47 $p = 0,0001$ <b>Desv.</b> Saudável 0,12 Severa 0,17 $p = 0,0081$	<b>Média</b> Leve 3,53 Moderada 3,49 $p = 0,0177$ <b>Desv.</b> Leve 0,23 Moderada 0,18 $p = 0,0067$	<b>Média</b> Leve 3,53 Severa 3,47 $p = 0,0087$ <b>Desv.</b> Leve 0,23 Severa 0,17 $p = 0,0035$	<b>Média</b> Moderada 3,49 Severa 3,47 $p = 0,4777$ <b>Desv.</b> Moderada 0,18 Severa 0,17 $p = 0,3061$
Entropia $9 \times 9$	<b>Média</b> Saudável 4,00 Leve 3,89 $p = 0,0595$ <b>Desv.</b> Saudável 0,13 Leve 0,26 $p = 0,3187$	<b>Média</b> Saudável 4,00 Moderada 3,85 $p = 0,0001$ <b>Desv.</b> Saudável 0,13 Moderada 0,20 $p = 0,0945$	<b>Média</b> Saudável 4,00 Severa 3,84 $p = 0,0001$ <b>Desv.</b> Saudável 0,13 Severa 0,19 $p = 0,0128$	<b>Média</b> Leve 3,89 Moderada 3,85 $p = 0,0172$ <b>Desv.</b> Leve 0,26 Moderada 0,20 $p = 0,0072$	<b>Média</b> Leve 3,89 Severa 3,84 $p = 0,0130$ <b>Desv.</b> Leve 0,26 Severa 0,19 $p = 0,0042$	<b>Média</b> Moderada 3,85 Severa 3,84 $p = 0,6120$ <b>Desv.</b> Moderada 0,20 Severa 0,19 $p = 0,3237$

Tabela 9 – Informações estatísticas de média e desvio padrão para as características de Entropia nas escalas  $11 \times 11$ ,  $13 \times 13$  e  $15 \times 15$  e *Índice Moran*.

Característica	$S \times L$	$S \times M$	$S \times S_E$	$L \times M$	$L \times S_E$	$M \times S_E$
Entropia $11 \times 11$	<b>Média</b> Saudável 4,27 Leve 4,16 $p = 0,0537$ <b>Desv.</b> Saudável 0,14 Leve 0,28 $p = 0,2656$	<b>Média</b> Saudável 4,27 Moderada 4,11 $p = 0,0001$ <b>Desv.</b> Saudável 0,14 Moderada 0,22 $p = 0,1251$	<b>Média</b> Saudável 4,27 Severa 4,11 $p = 0,0001$ <b>Desv.</b> Saudável 0,14 Severa 0,20 $p = 0,0186$	<b>Média</b> Leve 4,16 Moderada 4,11 $p = 0,0166$ <b>Desv.</b> Leve 0,28 Moderada 0,22 $p = 0,0080$	<b>Média</b> Leve 4,16 Severa 4,11 $p = 0,0181$ <b>Desv.</b> Leve 0,28 Severa 0,20 $p = 0,0048$	<b>Média</b> Moderada 4,11 Severa 4,11 $p = 0,7447$ <b>Desv.</b> Moderada 0,22 Severa 0,20 $p = 0,3294$
Entropia $13 \times 13$	<b>Média</b> Saudável 4,49 Leve 4,36 $p = 0,0490$ <b>Desv.</b> Saudável 0,15 Leve 0,30 $p = 0,2236$	<b>Média</b> Saudável 4,49 Moderada 4,32 $p = 0,0001$ <b>Desv.</b> Saudável 0,15 Moderada 0,23 $p = 0,1639$	<b>Média</b> Saudável 4,49 Severa 4,32 $p = 0,0001$ <b>Desv.</b> Saudável 0,15 Severa 0,21 $p = 0,0258$	<b>Média</b> Leve 4,36 Moderada 4,32 $p = 0,0159$ <b>Desv.</b> Leve 0,30 Moderada 0,23 $p = 0,0091$	<b>Média</b> Leve 4,36 Severa 4,32 $p = 0,0237$ <b>Desv.</b> Leve 0,30 Severa 0,21 $p = 0,0054$	<b>Média</b> Moderada 4,32 Severa 4,32 $p = 0,8680$ <b>Desv.</b> Moderada 0,23 Severa 0,21 $p = 0,3272$
Entropia $15 \times 15$	<b>Média</b> Saudável 4,65 Leve 4,53 $p = 0,0449$ <b>Desv.</b> Saudável 0,15 Leve 0,31 $p = 0,1889$	<b>Média</b> Saudável 4,65 Moderada 4,48 $p = 0,0001$ <b>Desv.</b> Saudável 0,15 Moderada 0,24 $p = 0,2144$	<b>Média</b> Saudável 4,65 Severa 4,48 $p = 0,0001$ <b>Desv.</b> Saudável 0,15 Severa 0,21 $p = 0,0346$	<b>Média</b> Leve 4,53 Moderada 4,48 $p = 0,0150$ <b>Desv.</b> Leve 0,31 Moderada 0,24 $p = 0,0107$	<b>Média</b> Leve 4,53 Severa 4,48 $p = 0,0291$ <b>Desv.</b> Leve 0,31 Severa 0,21 $p = 0,0060$	<b>Média</b> Moderada 4,48 Severa 4,48 $p = 0,9757$ <b>Desv.</b> Moderada 0,24 Severa 0,21 $p = 0,3204$
Índice Moran	<b>Média</b> Saudável 0,09 Leve 0,12 $p = 0,0001$ <b>Desv.</b> Saudável 0,02 Leve 0,05 $p = 0,0001$	<b>Média</b> Saudável 0,09 Moderada 0,12 $p = 0,0001$ <b>Desv.</b> Saudável 0,02 Moderada 0,05 $p = 0,0001$	<b>Média</b> Saudável 0,09 Severa 0,10 $p = 0,4911$ <b>Desv.</b> Saudável 0,02 Severa 0,03 $p = 0,0672$	<b>Média</b> Leve 0,12 Moderada 0,12 $p = 0,5441$ <b>Desv.</b> Leve 0,05 Moderada 0,05 $p = 0,6114$	<b>Média</b> Leve 0,12 Severa 0,10 $p = 0,0001$ <b>Desv.</b> Leve 0,05 Severa 0,03 $p = 0,1110$	<b>Média</b> Moderada 0,12 Severa 0,10 $p = 0,0007$ <b>Desv.</b> Moderada 0,05 Severa 0,03 $p = 0,0503$

Tabela 10 – Informações estatísticas de média e desvio padrão para as características de área, excentricidade, perímetro, orientação, e solidez.

Característica	<i>S × L</i>	<i>S × M</i>	<i>S × SE</i>	<i>L × M</i>	<i>L × SE</i>	<i>M × SE</i>
Área	<b>Média</b> Saudável 1127,55 Leve 1122,65 $p = 0,4893$	<b>Média</b> Saudável 1127,55 Moderada 980,57 $p = 0,0001$	<b>Média</b> Saudável 1127,55 Severa 938,00 $p = 0,0001$	<b>Média</b> Leve 1122,65 Moderada 980,57 $p = 0,0003$	<b>Média</b> Leve 1122,65 Severa 938,00 $p = 0,0001$	<b>Média</b> Moderada 980,57 Severa 938,00 $p = 0,1751$
	<b>Desv.</b> Saudável 240,65 Leve 372,33 $p = 0,0249$	<b>Desv.</b> Saudável 240,65 Moderada 220,45 $p = 0,0026$	<b>Desv.</b> Saudável 240,65 Severa 177,42 $p = 0,0014$	<b>Desv.</b> Leve 372,33 Moderada 220,65 $p = 0,0010$	<b>Desv.</b> Leve 372,33 Severa 177,42 $p = 0,0005$	<b>Desv.</b> Moderada 220,45 Severa 177,42 $p = 0,8500$
Excentricidade	<b>Média</b> Saudável 0,71 Leve 0,73 $p = 0,0017$	<b>Média</b> Saudável 0,71 Moderada 0,76 $p = 0,0001$	<b>Média</b> Saudável 0,71 Severa 0,76 $p = 0,0001$	<b>Média</b> Leve 0,73 Moderada 0,76 $p = 0,0007$	<b>Média</b> Leve 0,73 Severa 0,76 $p = 0,0009$	<b>Média</b> Moderada 0,76 Severa 0,76 $p = 0,9821$
	<b>Desv.</b> Saudável 0,04 Leve 0,05 $p = 0,1237$	<b>Desv.</b> Saudável 0,04 Moderada 0,05 $p = 0,0022$	<b>Desv.</b> Saudável 0,04 Severa 0,05 $p = 0,2265$	<b>Desv.</b> Leve 0,05 Moderada 0,05 $p = 0,1196$	<b>Desv.</b> Leve 0,05 Severa 0,05 $p = 0,7476$	<b>Desv.</b> Moderada 0,05 Severa 0,05 $p = 0,0814$
Orientação	<b>Média</b> Saudável -5,37 Leve -3,97 $p = 0,8743$	<b>Média</b> Saudável -5,37 Moderada 5,37 $p = 0,0013$	<b>Média</b> Saudável -5,37 Severa -7,10 $p = 0,5810$	<b>Média</b> Leve -3,97 Moderada 5,37 $p = 0,0032$	<b>Média</b> Leve -3,97 Severa -7,10 $p = 0,7327$	<b>Média</b> Moderada 5,37 Severa -7,10 $p = 0,0020$
	<b>Desv.</b> Saudável 17,13 Leve 23,02 $p = 0,1321$	<b>Desv.</b> Saudável 17,13 Moderada 20,65 $p = 0,9797$	<b>Desv.</b> Saudável 17,13 Severa 21,06 $p = 0,0057$	<b>Desv.</b> Leve 23,02 Moderada 20,65 $p = 0,1922$	<b>Desv.</b> Leve 23,02 Severa 21,06 $p = 0,1908$	<b>Desv.</b> Moderada 20,65 Severa 21,06 $p = 0,0058$
Perímetro	<b>Média</b> Saudável 121,92 Leve 120,93 $p = 0,6868$	<b>Média</b> Saudável 121,92 Moderada 115,75 $p = 0,0024$	<b>Média</b> Saudável 121,92 Severa 115,19 $p = 0,0001$	<b>Média</b> Leve 120,93 Moderada 115,75 $p = 0,0030$	<b>Média</b> Leve 120,93 Severa 115,19 $p = 0,0011$	<b>Média</b> Moderada 115,75 Severa 115,19 $p = 0,6891$
	<b>Desv.</b> Saudável 11,67 Leve 18,21 $p = 0,5893$	<b>Desv.</b> Saudável 11,67 Moderada 11,81 $p = 0,0416$	<b>Desv.</b> Saudável 11,67 Severa 11,48 $p = 0,6063$	<b>Desv.</b> Leve 18,21 Moderada 11,81 $p = 0,0115$	<b>Desv.</b> Leve 18,21 Severa 11,48 $p = 0,9843$	<b>Desv.</b> Moderada 11,81 Severa 11,48 $p = 0,0321$
Solidez	<b>Média</b> Saudável 0,96 Leve 0,97 $p = 0,0321$	<b>Média</b> Saudável 0,96 Moderada 0,96 $p = 0,2810$	<b>Média</b> Saudável 0,96 Severa 0,95 $p = 0,0001$	<b>Média</b> Leve 0,97 Moderada 0,96 $p = 0,0005$	<b>Média</b> Leve 0,97 Severa 0,95 $p = 0,0001$	<b>Média</b> Moderada 0,96 Severa 0,95 $p = 0,0001$
	<b>Desv.</b> Saudável 0,01 Leve 0,01 $p = 0,0637$	<b>Desv.</b> Saudável 0,01 Moderada 0,01 $p = 0,8221$	<b>Desv.</b> Saudável 0,01 Severa 0,01 $p = 0,2178$	<b>Desv.</b> Leve 0,01 Moderada 0,01 $p = 0,0468$	<b>Desv.</b> Leve 0,01 Severa 0,01 $p = 0,0079$	<b>Desv.</b> Moderada 0,01 Severa 0,01 $p = 0,1588$