



Universidade Federal de Uberlândia
Faculdade de Engenharia Elétrica
Graduação em Engenharia Biomédica

LUCCA PEREIRA MEROLA

**ADAPTAÇÃO DE METODOLOGIA DE SEGMENTAÇÃO DE IMAGENS PARA
EXTRAÇÃO VASCULAR**

Uberlândia
2022

LUCCA PEREIRA MEROLA

ADAPTAÇÃO DE METODOLOGIA DE SEGMENTAÇÃO DE IMAGENS PARA
EXTRAÇÃO VASCULAR

Trabalho apresentado como requisito parcial de avaliação na disciplina Trabalho de Conclusão de Curso de Engenharia Biomédica da Universidade Federal de Uberlândia.

Orientador: Ana Cláudia Patrocínio

Assinatura do Orientador

Uberlândia
2022

Dedico esse trabalho à minha família, meus colegas por todo apoio, incentivo e compreensão durante a graduação.

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora, Dra. Ana Claudia Patrocínio, por ter aceitado o convite de orientação, pelo apoio a este trabalho e por ter me cativado a área de processamento de imagens. Nossas conversas foram essenciais para o meu desenvolvimento acadêmico e pessoal.

À minha mãe e meu pai pela oportunidade de ter concentrado todos os meus esforços nos meus estudos durante todo o percurso universitário. Com toda certeza, ter a oportunidade de dedicar apenas à graduação me permitiu explorar muitos recursos que o ensino superior federal oferece tanto no percurso acadêmico quanto no quesito de cidadania.

RESUMO

Usando o exame de arteriografia, é possível verificar anomalias nos vasos sanguíneos e doenças como derrame, estenose, sangramento e especialmente no diagnóstico de morte encefálica em casos críticos. A morte encefálica só pode ser diagnosticada quando há interrupção completa de todas as funções cerebrais e, portanto, do fluxo sanguíneo. Durante o exame, pode haver alguma interferência nos sensores, tais como fatores ambientais, má manutenção do equipamento, movimento do paciente, entre outras interferências, que podem afetar diretamente o ruído produzido nas imagens de angiografia. Já imagens por tomografias síncrotron (SR-PCT – Synchrotron Radiation Phase Contrast Tomography) são utilizadas para análises de microestruturas, como por exemplo estudos pré-clínicos de pequenas redes vasculares. Por isso, o presente trabalho visa adaptar um processo de segmentação e extração vascular criado para imagens por SR-PCT em imagens de arteriografia. Dessa forma, será estendida a capacidade de segmentação do algoritmo desenvolvido para segmentação microvascular para o auxílio na detecção e diagnóstico de situações de morte cerebrais em pacientes humanos.

Palavras-Chave: Morte cerebral. Arteriografia. Segmentação. *Synchrotron*. Vascular.

ABSTRACT

Using the arteriography examination, it is possible to check for abnormalities in the blood vessels and diseases such as stroke, stenosis, bleeding and especially in the diagnosis of brain death in critical cases. Brain death can only be diagnosed when there is a complete interruption of all brain functions and, therefore, of the blood flow. During the examination, there may be some interference in the sensors, such as environmental factors, poor equipment maintenance, patient movement, among other interferences, which can directly affect the noise produced in the angiography images. On the other hand, images by synchrotron tomography (SR-PCT - Synchrotron Radiation Phase Contrast Tomography) are used for microstructure analysis, such as pre-clinical studies of small vascular networks. Therefore, the present work aims to adapt a process of segmentation and vascular extraction created for SR-PCT images in arteriography images. Thus, the segmentation capacity of the developed algorithm for microvascular segmentation will be extended to aid in the detection and diagnosis of brain death situations in human patients.

Keywords: Brain death. Arteriography. Segmentation. Synchrotron. Vascular.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Esquemático que representa a geração de radiação síncrotron a partir de um acelerador de partículas (UMETANI, 2018) (https://www.spiedigitallibrary.org/conference-proceedings-of-spie/10816/2501282/High-resolution-wide-field-synchrotron-radiation-micro-CT-for-large/10.1117/12.2501282.short)	15
Figura 2 – Plotagens da função Sigmoide com variação do parâmetro de ganho “t” (KANNAN, DEEPA, 2012).	20
Figura 3 – Exemplo de operação de fechamento sendo aplicada à uma imagem binária, com ES (2x2 pixels).	25
Figura 4 – Exemplo de um corte da imagem SR-PCT do fígado de camundongo utilizada na segmentação vascular proposta neste trabalho.	30
Figura 5 – Exemplo de um quadro da imagem de arteriografia de um paciente utilizada na segmentação vascular proposta neste trabalho.	31
Figura 6 – Diagrama de blocos de todo o processamento criado para a segmentação da rede vascular a partir das imagens obtidas por SR-PCT..	342
Figura 7 – Representação dos resultados de cada processamento aplicado a imagem original (a), transformada por sigmoide adaptativa (b), filtro de Frangi (c), segunda sigmoide e difusão anisotrópica (d).	34
Figura 8 – Histograma de uma imagem por SR-PCT obtido através do software ImageJ. Aqui, é mostrada a má distribuição de intensidade ao longo da escala 8 bits de cinza.....	36
Figura 9 – Diagrama de blocos de todo o processamento criado para a segmentação da rede vascular a partir das imagens obtidas por arteriografia.	36
Figura 10 – Resultados do processo de segmentação vascular das imagens de fígado de camundongo por SR-PCT. Em cima temos 3 cortes da imagem original bruta e abaixo os mesmos 3 cortes sobrepostos pelo resultado do algoritmo em verde.....	37
Figura 11 – Renderização em 3D da rede vascular extraída a partir de imagens do fígado de camundongo obtidas por SR-PCT. Em (a) o órgão renderizado, (b) a rede extraída em verde e um corte da imagem projetado para indicar a região segmentada. Abaixo, uma aproximação de uma região para melhor visualização dos detalhes.	38
Figura 12 – Resultado da anotação manual dos tecidos vasculares para a criação de uma referência. Em (a) dois cortes da imagem original, (b) os dois cortes originais com os tecidos vasculares anotados em verde e (c) o resultado da segmentação manual.	40

Figura 13 – Sobreposição das falsas detecções obtidas no resultado da segmentação desenvolvida. Em vermelho os falsos negativos e em verde os falsos positivos.	41
Figura 14 – Resultados das segmentações de diferentes tomadas. Cada coluna representa um frame de uma tomada, a primeira linha sendo a original, a segunda só a segmentação e a terceira a sobreposição das duas.	42
Figura 15 – Resultados de cada processo do fluxo de segmentação de diferentes tomadas de um mesmo exame.	424

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Autovalores da matriz Hessiana de uma imagem 3D e orientações da estrutura. Fonte: Autor.....	21
Tabela 2 – Avaliação dos indicadores de performance sobre o processamento de segmentação vascular desenvolvido no trabalho.	39
Tabela 3 – Avaliação das segmentações aplicadas aos dois grupos analisados de arteriografia.	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CA	<i>Cerebral Angiography</i>
CTA	<i>Computed Tomography Angiography</i>
SR-PCT	<i>Synchrotron Ray by Phase Contrast Tomography</i>
DSA	<i>Digital Subtraction Angiography</i>
ES	<i>Elementos Estruturantes</i>
TP	<i>True Positive</i>
TN	<i>True Negative</i>
FP	<i>False Positive</i>
FN	<i>False Negative</i>
DC	<i>Dice Coefficient</i>
JI	<i>Jaccard Index</i>
CNN	<i>Convolutional Neural Networks</i>
VesSap	<i>Vessel Segmentation and Analysis Pipeline</i>
DE	<i>Morte Encefálica</i>
OC	<i>Outros Casos</i>
DICOM	<i>Digital Imaging Communications in Medicine</i>
FOV	<i>Field of Vision</i>

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
1.1. Objetivo	13
2. IMAGENS MÉDICAS DIGITAIS.....	14
2.1. TOMOGRAFIA POR CONTRASTE DE FASE E RADIAÇÃO SÍNCROTRON (SR-PCT).....	14
2.2. ARTERIOGRAFIA	15
3. PROCESSAMENTO DIGITAL DE IMAGENS	17
3.1. Segmentação para extração da rede vascular.....	18
3.2. Pré-processamento	19
3.2.1. Transformação de intensidade com função sigmoide	19
3.2.2. Filtro de Frangi.....	20
3.3. Segmentação	22
3.3.1. Limiarização.....	22
3.3.2. Classificação por <i>K-Means</i>	23
3.4. Pós-processamento.....	23
3.4.1. Difusão Anisotrópica.....	23
3.4.2. Fechamento	24
4. MÉTRICAS	26
5. ESTADO DA ARTE	28
6. MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
6.1. Bancos de Imagens	29
6.2. Ferramentas.....	31
6.3. Processamento	31
7. RESULTADOS	36
8. CONCLUSÃO.....	45
REFERÊNCIAS.....	46

1. INTRODUÇÃO

As redes vasculares sanguíneas desempenham um papel fundamental no funcionamento do corpo. Com a sua estrutura arborescente, elas transportam o sangue para os tecidos de uma forma equilibrada e asseguram as trocas bioquímicas, inerentes aos processos metabólicos. Assim, a atividade vascular pode servir como indicação de diversas patologias. Por exemplo, o estudo e a análise dos sistemas vasculares do cérebro e do fígado são de grande importância, com aplicações clínicas tanto no monitoramento do carcinoma hepatocelular (FERNANDEZ, 2009), no estudo do impacto dos agregados $\alpha\beta$ amiloides sobre tecido cerebral (KLOHS, 2014) e no auxílio ao diagnóstico de estado de morte cerebral em pacientes em estados críticos. A visualização de redes vasculares, juntamente da extração de informações com o apoio de diferentes tecnologias de processamento de imagem, é constantemente reforçada em práticas clínicas e pré-clínicas.

Diferentes tipos de tecnologias de imagem têm surgido com o objetivo de fornecer uma análise mais precisa das estruturas vasculares. Os micro-scans oferecem uma resolução de micrômetros e fornecem um nível de detalhe relevante para o estudo pré-clínico da microvascularização em humanos. Além destas tecnologias voltadas para o estudo pré-clínico de patologias, também existem os métodos já conhecidos, mas que são continuamente explorados em novas aplicações. O grande diferencial que complementa as novidades em imagens médicas, são as diferentes implementações de algoritmos que auxiliam no processo de diagnóstico. Desde extração de redes vasculares para pré-planejamento cirúrgico até para a avaliação do mecanismo de transporte em zonas críticas.

As aplicações de processamento em imagens vêm ganhando cada vez mais enfoque nos domínios clínicos e científicos. Já se percebe que muitos trabalhos desenvolvidos com um objetivo específico podem ser de grande valia para um método alternativo de imagem, ou até para uma aplicação distinta. Os algoritmos de segmentação, por exemplo, possuem aplicabilidade desde análises topográficas em estudos geográficos, até na avaliação do sistema vascular em um possível diagnóstico de morte cerebral. O segundo, que ainda hoje é muito apoiado na visão de radiologistas especialistas para o diagnóstico final em casos de dúvidas (GARRETT, 2018).

O diagnóstico de morte cerebral é estabelecido por meio de critérios clínicos incluindo coma, ausência de reflexos do tronco cerebral e teste de apneia positivo. No entanto, o processo de diagnóstico é complicado e depende de variações, como a gestão do teste de apneia, período

de espera antes do teste, efeitos de medicamentos sedativos, a experiência dos médicos e a necessidade de testes auxiliares (GARRETT, 2018). Além disso, não há consenso sobre a necessidade dos testes auxiliares, por exemplo, em alguns países, os testes auxiliares são obrigatórios, em outros, são obrigatórios quando existe incerteza sobre a confiabilidade da clínica do exame (GARRETT, 2018). Com o tempo, testes de confirmação da função cerebral foram desenvolvidos e fornecem dados adicionais em situações com fatores de confusão. Esses testes podem ser agrupados em 2 categorias amplas: 1) aquelas que examinam a atividade elétrica do cérebro, e 2) aqueles que avaliam a irrigação do órgão. Entre esses estudos auxiliares, a angiografia cerebral (CA) tem sido considerado o padrão ouro, baseado na teoria de que a parada circulatória cerebral é incompatível com a vida e que tal interrupção é mais confiável diagnosticada com CA. Tendo isso em vista, a aplicação de algoritmos para o auxílio na detecção de morte cerebral em casos dúbios se faz um campo emergente.

1.1. Objetivo

O atual trabalho visa aplicar um algoritmo desenvolvido para extração e caracterização de redes vasculares em imagens de micro-scan por radiação síncrotron, em imagens de angiografia cerebral.

Objetivos específicos:

- Adaptação do algoritmo de segmentação para imagens de angiografia;
- Quantificar a segmentação do tecido vascular irrigado para auxílio no diagnóstico de morte encefálica.

2. IMAGENS MÉDICAS DIGITAIS

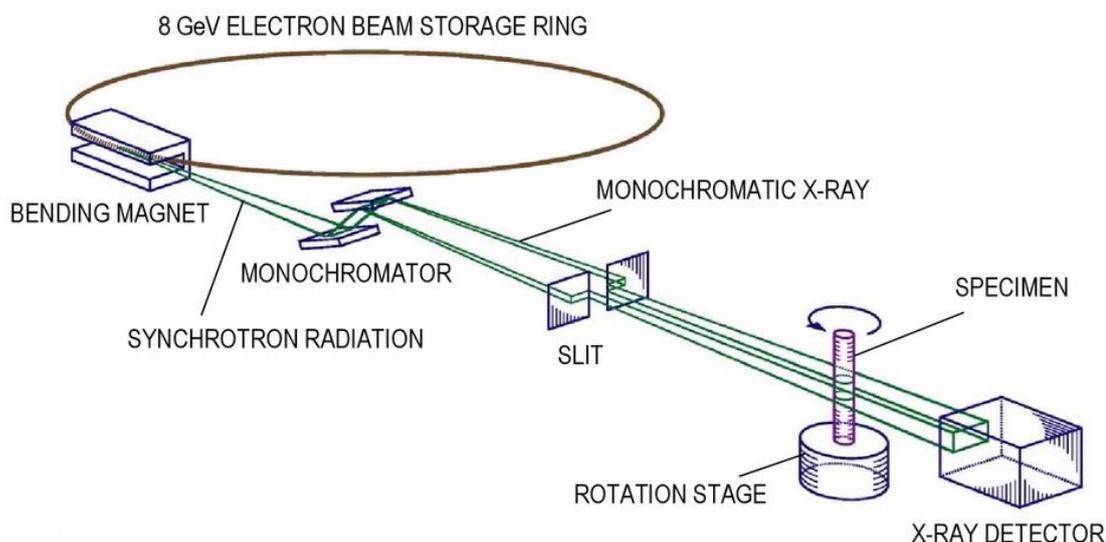
2.1. TOMOGRAFIA POR CONTRASTE DE FASE E RADIAÇÃO SÍNCROTRON (SR-PCT)

A tomografia é um exame radiográfico, ou seja, utiliza raios X como método de obtenção da imagem. Em alguns casos, como na análise de microestruturas, é necessária a utilização de uma radiação mais penetrante e menos ruidosa. Para tal, uma técnica emergente vem ganhando espaço na área de imagens médicas, a tomografia por radiação síncrotron. Esta tecnologia consiste na emissão de raios X através de partículas carregadas percorrendo um campo magnético curvado, gerado por um acelerador de partículas (Figura 1). A radiação gerada é monocromática, polarizada, de alta coerência e um amplo espectro de energia, o que permite a visualização de pequenas estruturas com menos ruídos que a tomografia convencional (CTA) (BAYAT, 2020).

Quanto à forma de geração da imagem a partir de tomografias, existem alguns princípios de aquisição, como: por atenuação dos feixes ou por contraste de fase. No primeiro caso, o resultado da imagem se dá por meio das diferentes intensidades que o feixe de raios X gera em um filme ou sensor eletrônico. Em estruturas mais densas, os feixes são mais atenuados e, por consequência, temos um sinal mais fraco na imagem final. Em estruturas menos densas, temos o caso contrário. Já no segundo caso, as diferenças de intensidade se dão por meio do deslocamento de fase dos feixes após atravessar um tecido (SNIGIREV, 1995).

Em algumas aplicações, é utilizada a radiação síncrotron associada à análise por contraste de fase, como em alguns estudos de cristalografia, análises de tecidos pulmonares e estudos pré-clínicos em órgãos de pequenos animais (BAYAT, 2020; SHUPENG, 2019). A tomografia por contraste de fase e radiação síncrotron (*SR-PCT*) oferece uma sensibilidade inigualável em tecidos moles com baixa absorção de raios X, sem a utilização de agentes de contraste. Ideal para análises tanto *in vivo* quanto *in vitro* de pequenas estruturas vasculares para estudos de angiogênese em implantes ósseos (GIULIANI, 2017).

Figura 1 – Esquemático que representa a geração de radiação síncrotron a partir de um acelerador de partículas (UMETANI, 2018)



2.2. ARTERIOGRAFIA

A arteriografia é uma técnica que se baseia na captação de radiografias ao longo do tempo em uma determinada artéria contrastada. Isso só é possível pela injeção de um fármaco radiopaco, uma vez que os vasos, juntamente com o sangue, têm densidades semelhantes aos tecidos do entorno, essa pouca diferença de densidade provoca baixa distinção entre a artéria e os demais tecidos. O contraste injetado modifica durante instantes a densidade no local do vaso desejado, o que possibilita que o vaso seja destacado (BRAUN, 1997).

Para que se possa injetar esse contraste é inserido um cateter em algum vaso sanguíneo, esse cateter é conduzido até o ponto de coleta radiográfica e tem por finalidade dar condução ao contraste (fármaco). A inserção de contraste radiopaco deve ser feita mediante uma pequena intervenção cirúrgica, normalmente é feita uma punção pela qual um cateter é inserido em uma das três artérias: femoral, braquial ou axial e conduzido até o local a ser contrastado pelo fármaco. Com tal processo é possível avaliar doenças como acidente vascular cerebral, aneurismas, estenoses, hemorragias e até mesmo morte encefálica (JUDKINS, 1967).

Para caracterizar o exame de arteriografia, atualmente é preciso definir o que é o equipamento de hemodinâmica (arteriografia) e como ele funciona. O equipamento de arteriografia plana é um equipamento de radiografia digital, que gera quadros (*frames*) em

sequência, a uma certa frequência de aquisição. O conjunto dessas aquisições formam uma tomada.

3. PROCESSAMENTO DIGITAL DE IMAGENS

Devido à natureza das imagens médicas digitais, algumas características intrínsecas dos métodos de aquisição podem gerar ruídos e baixa resolução de contraste, que interferem em aplicações como: diagnóstico, extração e identificação de estruturas. Dentre os principais problemas podemos citar a presença de ruído e baixo contraste entre as estruturas de densidades ópticas semelhantes. Tendo isso em vista, podemos considerar a primeira etapa do processamento de imagens radiológicas como o pré-processamento para restauração (ou filtragem), que tem como objetivo melhorar a qualidade da imagem adquirida, suavizando ruídos e aumentando o contraste entre as regiões de interesse (GONZALEZ, WOODS, 2010).

Como segunda etapa no processamento de imagens digitais, temos a segmentação. Esse processo é definido pela identificação e detecção de estruturas de interesse na imagem, diferenciando-as do fundo. Em imagens de DSA ou SR-PCT os objetos a serem encontrados na segmentação são, geralmente, estruturas vasculares dos mais variados tamanhos, na intenção de realizar sua extração para posteriores estudos morfológicos e patológicos. Esse processo é utilizado como método de auxílio em diagnósticos e também na modelagem em 3D das estruturas para fins de planejamentos cirúrgicos (LEBRE, VACAVANT, ROSITI, 2019; GONZALEZ, WOODS, 2010).

Os algoritmos de segmentação podem ser classificados em duas naturezas, sendo: técnicas que levam ou não em conta o contexto da imagem. O primeiro caso leva em consideração as relações entre as estruturas da imagem, agrupando pixels com níveis de intensidade parecidos, por exemplo. Já o segundo, agrupa os pixels baseado unicamente em algum atributo global, como o nível de cinza, por meio de técnicas de limiarização baseadas no histograma da imagem (DOUGHERTY, 2009).

A segmentação é uma tarefa difícil no processamento de imagens, sendo uma área com grande quantidade de pesquisas em desenvolvimento. Os algoritmos de segmentação procuram operar nas variações de intensidade e textura para identificar regiões semelhantes. Dentre as técnicas de segmentações temos a limiarização, crescimento de regiões, filtragem do espaço escalar e métodos estatísticos (TAHER, MAHMOUD, 2018; GONZALEZ, WOODS, 2010; PANDEY, LALCHHANHIMA, 2020).

No processamento de imagens digitais, definimos uma imagem como uma função $f(x, y)$, na qual x e y são as coordenadas espaciais e f representa a intensidade de cor (brilho) neste ponto. Em termos de processamento digital, a melhor maneira de representar uma imagem

é a partir de uma matriz numérica $M \times N$ que correspondem, respectivamente, ao número de linhas e colunas da matriz. Cada elemento da matriz constitui um elemento de imagem, chamado de *pixel*, possuindo uma coordenada espacial e um valor de intensidade ou nível de cinza associado. Podemos representar essa matriz conforme Equação 1 (GONZALEZ, WOODS, 2010):

$$f(x, y) = \begin{bmatrix} f(0,0) & \cdots & f(0, N-1) \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ f(M-1,0) & \cdots & f(M-1, N-1) \end{bmatrix} \quad (1)$$

A quantidade de níveis de cinza que podem estar presentes em uma imagem está diretamente relacionado ao número de *bits* necessários para armazená-la. Esse número representa a menor variação entre os níveis de intensidade da imagem. Dessa forma, sendo n o número de *bits* da imagem, a quantidade de níveis de intensidade é igual a 2^n . Por exemplo, uma imagem de 8 *bits* de resolução apresenta 256 tons de cinza disponíveis para exibição (GONZALEZ, WOODS, 2010).

Os processamentos da imagem que atuam diretamente nos pixels são as técnicas no domínio espacial. Essas técnicas possibilitam manipular os níveis de intensidade dos pixels, conforme sua vizinhança. Para isso, definimos os processamentos com a seguinte expressão, em que $f(x, y)$ é a imagem de entrada, $g(x, y)$ a imagem de saída e T é o operador a ser aplicado (GONZALEZ, WOODS, 2010), conforme descrito na Equação 2 :

$$g(x, y) = T[f(x, y)] \quad (2)$$

Para realizar um processamento no domínio espacial, definimos uma matriz contendo os coeficientes desejados, sendo essa matriz também chamada de máscara ou *kernel*. Essa máscara é movida por todos pixels da imagem, aplicando o operador T aos pixels da vizinhança. O valor do pixel central é então substituído pelo resultado da operação e, após o processamento em todas as linhas e colunas, a imagem de saída é formada (GONZALEZ, WOODS, 2010).

3.1. Segmentação para extração da rede vascular

A extração vascular usando *software* pode ser feita de diferentes maneiras. Cada estudo utiliza uma nomenclatura diferente para as etapas de processamento (GOYAL, 2012), mas muitas vezes há uma etapa de preparação da imagem bruta obtida e outra etapa de

segmentação da rede vascular. Neste trabalho, é considerada a primeira fase como pré-processamento, a segunda como segmentação e a última como pós-processamento. No campo das imagens SR-PCT, não é possível encontrar muitos estudos que focam o aspecto técnico da extração. Em geral, os autores se concentram mais na análise da rede já extraída, utilizando técnicas simples de limiarização ou sem aprofundar a metodologia utilizada, como em (LANGER, 2009; ZHANG, 2015). Além disso, metodologias para diferentes tipos de tomografia têm sido usadas como referência.

3.2. Pré-processamento

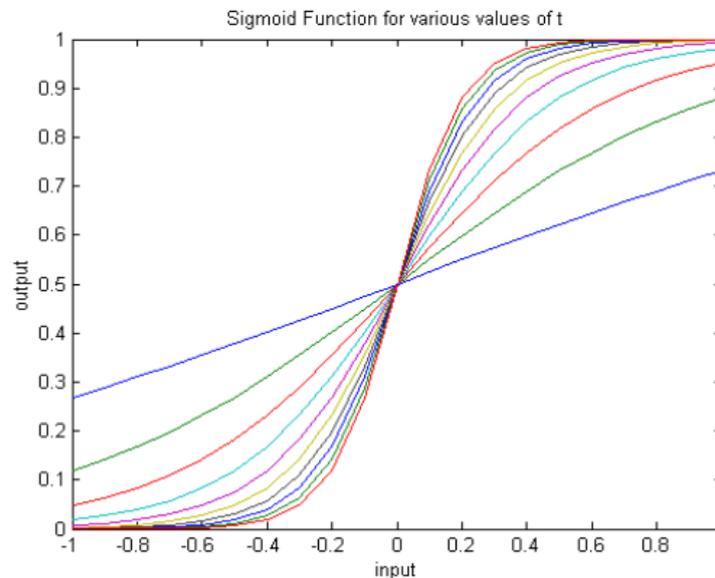
3.2.1. Transformação de intensidade com função sigmoide

A função Sigmoide é uma função contínua não-linear, que recebe esse nome pelo seu formato de “S” quando plotada graficamente. Estatisticamente, ela é chamada de função logística e é comumente utilizada como função de ativação em aplicações envolvendo redes neurais (GONZALEZ, WOODS, 2010). Tendo $f(x)$ onde x representa uma entrada da função e “ t ” o ganho dela, a função é definida conforme a Equação 3:

$$f(x) = \frac{1}{1 + e^{-tx}} \quad (3)$$

A função Sigmoide pode ser utilizada como uma transformação de intensidade para realce de contraste. Utilizando a intensidade de cinza de um pixel como entrada da função e parametrizando seu ganho, tem-se como resultado uma alteração em sua intensidade. Pela sua característica de ascensão suave, ela amplia a dinâmica de contraste do histograma de uma imagem (KANNAN, DEEPA, 2012). Abaixo, na Figura 2, tem-se a demonstração de diferentes plotagens da função para diferentes valores de ganho.

Figura 2 – Plotagens da função Sigmoide com variação do parâmetro de ganho “t”
(KANNAN, DEEPA, 2012).



3.2.2. Filtro de Frangi

A análise multiescala de autovalores, pela matriz hessiana para o realce de estruturas tubulares, é utilizada no campo do processamento digital de imagens (TAHER, MAHMOUD, 2018). A matriz Hessiana de uma função é a matriz quadrada, ou seja, com “n” colunas e “n” linhas (n X n) das derivadas parciais de segunda ordem da função, conforme a Equação 4:

$$H_f = \begin{bmatrix} \frac{\partial^2 f}{\partial x_1^2} & \dots & \frac{\partial^2 f}{\partial x_1 \partial x_n} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial^2 f}{\partial x_n \partial x_1} & \dots & \frac{\partial^2 f}{\partial x_n^2} \end{bmatrix}$$

(4)

Matematicamente, a matriz hessiana representa a curvatura local de cada ponto de uma função. No âmbito das imagens digitais, a decomposição em autovetores extrai um sistema de coordenadas que caracterizam o pixel de acordo com a estrutura a que ele pertence no contexto da imagem. Por exemplo, dependendo dos autovalores encontrados a partir da matriz, para imagens 2D, pode-se dizer se o pixel pertence à uma estrutura de borda, de canto ou uma área plana. Já em imagens 3D, pode-se definir a estrutura enquanto tubular, *blob-like* (semelhante a uma bolha) ou *sheet-like* (semelhante a uma folha). A Tabela 1 demonstra um exemplo de

classificação da estrutura de uma imagem a partir dos 3 autovalores extraídos da matriz Hessiana de uma imagem 3D.

Tabela 1 – Autovalores da matriz Hessiana de uma imagem 3D e orientações da estrutura.

Fonte: Autor.

λ_1	λ_2	λ_3	Orientação da estrutura
B	B	B	Ruído (sem estrutura detectada)
B	B	A-	Estrutura de “folha” clara
B	B	A+	Estrutura de “folha” escura
B	H-	A-	Estrutura tubular clara
B	A+	A+	Estrutura tubular escura
A-	A-	A-	Estrutura de “bolha” clara
A+	A+	A+	Estrutura de “bolha” clara

Conforme a Tabela 1, tem-se como B = baixa intensidade, A+ = alta intensidade positiva, A- = alta intensidade negativa, os sinais são referentes a detecção da estrutura na escala de cinza da imagem (negativo: se a estrutura detectada é representada em escuro na imagem, positivo: se a estrutura detectada é representada em claro).

Filtros para detectar estruturas que se assemelham a vasos sanguíneos foram propostos por (FRANGI, 2000; SATO, 1998). Os autovalores podem ser analisados para formar uma função discriminante, cujas respostas máximas indicam uma estrutura semelhante a uma rede vascular (ZHAO, 2019). Considerando λ_i , $i = 1,2,3$ os autovalores da matriz Hessiana de um volume de imagens e também a relação ideal entre estes valores $\lambda_2 \approx \lambda_3 \wedge |\lambda_{2,3}| \gg |\lambda_1|$ para estruturas em forma de tecido vascular. Usando a formulação de frangi (FRANGI, 2000), conforme Equação 5, e a medida de vascularidade 3D a vascularização é definida como:

$$V_{\sigma}(\lambda) = \begin{cases} \left(1 - e^{-\frac{RA^2}{2\alpha^2}}\right) * e^{-\frac{RB^2}{2\beta^2}} * \left(1 - e^{-\frac{S^2}{2\gamma^2}}\right), & \text{se } \lambda_2 > 0 \text{ e } \lambda_3 \\ 0, & \text{se não} \end{cases} \quad (5)$$

Onde:

$$RA = \frac{|\lambda_2|}{|\lambda_3|} \quad (6)$$

$$RB = \frac{|\lambda_1|}{|\lambda_3\lambda_2|} \quad (7)$$

$$S = \sqrt{\lambda_1^2 + \lambda_2^2 + \lambda_3^2} \quad (8)$$

e α , β e γ são parâmetros definidos pelo usuário que controlam a sensibilidade do filtro com as medidas RA , RB e S , conforme mostram as Equações 6, 7 e 8. Estas medidas indicam o desvio de uma estrutura de “bolha”, da estrutura de “folha” e de linha, e a sensibilidade do fundo, respectivamente. A medida final da vascularidade é dada pela análise da maior resposta de cada *voxel* na escala espacial " σ ", que indica as diferentes atenuações usadas na imagem original, como mostrado na Equação 9:

$$V(\lambda) = V_{\sigma}(\lambda)_{max} \in [\sigma_{min}, \sigma_{max}] \quad (9)$$

O algoritmo de Frangi mostra sua eficácia em diferentes aplicações como pode ser visto em (LAMY, 2020).

3.3. Segmentação

3.3.1. Limiarização

A limiarização é uma técnica de segmentação vastamente usada nas mais variadas aplicações de processamento de imagens digitais. Isto se dá, pela sua simplicidade de implementação e velocidade computacional, não necessitando de cálculos complexos envolvendo os pixels da imagem analisada. A limiarização consiste em determinar um valor de intensidade de pixel como um limiar “T” e aplicar um resultado a partir desta condição, por exemplo: para todos os pixels com intensidade acima de “T”, determinar a intensidade para um valor X. Dessa forma, qualquer estrutura da imagem que contenha intensidade acima do limiar terá sua intensidade resultante no valor definido.

Quando se encontra imagens com vários picos de intensidade dentro do seu histograma, também é possível trabalhar com mais de um limiar. Tendo isso em vista, podem

ser determinados “n” limiares a fim de melhor distinguir os intervalos de intensidade de uma imagem.

3.3.2. Classificação por *K-Means*

Este algoritmo é uma técnica iterativa de aprendizagem não supervisionada que agrupa uma amostra de dados em um número desejado de regiões (K) com base na distância de cada dado aos centroides de cada grupo definido (característica) (DHANACHANDRA, 2015). No caso de imagens, cada pixel representa um dado e os centroides serão determinados a partir das intensidades de pixels de acordo com K. Com esta função, é possível tornar esta etapa automática e adaptar as variações entre as diferentes aquisições de imagens.

Primeiro, é escolhido o número de regiões a serem divididas na imagem. Neste caso, a imagem foi dividida em duas regiões (K=2), o fundo e o tecido vascular. Então, o algoritmo calcula para cada pixel a distância euclidiana d , que é a relação estatística entre a intensidade do pixel e a intensidade média da região a ser agrupada, como na Equação 10:

$$d = ||Pixel - C_k|| \quad (10)$$

onde *Pixel* é a intensidade do pixel em consideração, C_k é a intensidade da região e k é o índice da região escolhida.

Após associar cada pixel a uma determinada região, a intensidade média da região é recalculada iterativamente até que uma tolerância de erro seja atingida, conforme Equação 11:

$$C_k = \frac{1}{k} \sum_{Pixel \in C_k} Pixel \quad (11)$$

Uma vez que a imagem tenha sido separada em fundo e tecido vascular, um simples ajuste para definir o algoritmo em apenas 2 regiões é usado para “binarizar” a imagem, dando intensidade máxima (branco) ao tecido segmentado e intensidade mínima (preto) para o resto da imagem.

3.4. Pós-processamento

3.4.1. Difusão Anisotrópica

A difusão anisotrópica é uma operação de atenuação que funciona tanto para remoção de ruído, quando para realce de estruturas. O modelo possui a característica de atuar em relação inversa à magnitude dos gradientes da imagem (KAMALAVENI, 2015), em outras palavras, ele é sensível a detecção de bordas na imagem. O coeficiente de dispersão, que é responsável pela atenuação da intensidade dos pixels da imagem, atua levando em conta as equações diferenciais parciais da imagem, que indicam a direção e a intensidade da variação da escala de cinza. Quando o valor do gradiente é grande (representando bordas e transições), o efeito de atenuação é pequeno (praticamente zero) e quando o gradiente se aproxima de 0 (representando estruturas lisas), a coeficiente possui seu valor máximo.

A metodologia usada no trabalho segue o primeiro modelo proposto por Perona Malik em (PERONA, MALIK, 1990), cuja equação está representada pela Equação 12:

$$\frac{\partial u}{\partial t} = \operatorname{div}(c(|\nabla u(x, y, t)|)\nabla u(x, y, t)) \quad (12)$$

Onde $u(x, y, t)$ é a imagem obtida após o tempo de difusão “t”, div é o operador de divergência e ∇ é o operador gradiente relacionado as variáveis espaciais da imagem “x” e “y”. $|\nabla|$ representa a magnitude local do gradiente e $c()$ é o coeficiente de difusão definido pela Equação 13:

$$c(|\nabla u(x, y, t)|) = \frac{1}{1 + \left(\frac{|u(x, y, t)|}{K}\right)^2} \quad (13)$$

e K representa a quantidade de difusão aplicada no determinado pixel da imagem.

3.4.2. Fechamento

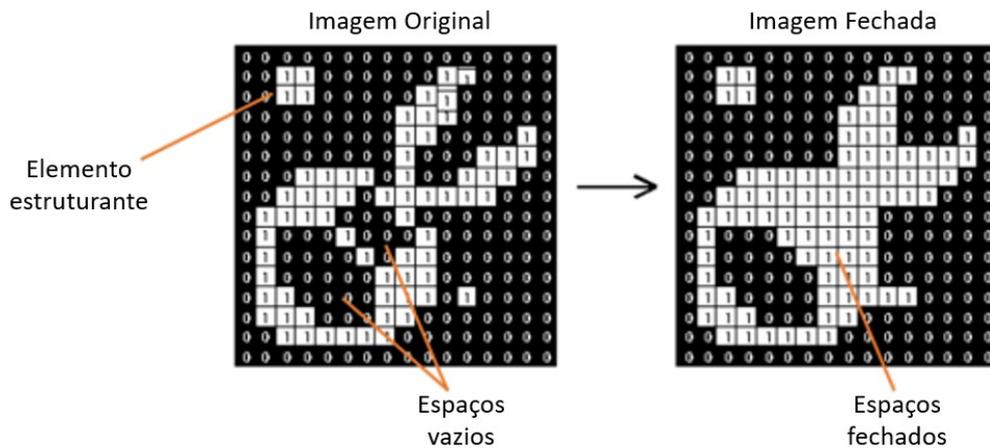
As operações morfológicas em processamento de imagens digitais são frequentemente usadas na etapa de pós-processamento. Elas consideram as características presentes no conjunto de pixels que formam uma imagem a ser analisada, e toda sua operação é realizada por meio de elementos estruturantes (ES). Estes ESs, são elementos que representam uma matriz de pixels que será comparada com regiões das imagens, para fins de operações matemáticas. No presente trabalho foi utilizada a técnica conhecida como fechamento (GONZALEZ, WOODS, 2010).

O fechamento consiste no processamento morfológico de duas operações mais simples, aplicadas sequencialmente: a erosão e, posteriormente, a dilatação. A erosão utiliza de um ES

para reduzir alguma característica morfológica da imagem original, por exemplo: os pixels brancos em uma imagem binária. O mesmo acontece com a dilatação, mas usando o ES para expandir uma dada característica morfológica (GONZALEZ, WOODS, 2010).

Para um maior entendimento do processo utilizado, a Figura 3 mostra um exemplo visual aplicado à uma imagem. Note que, em uma dada imagem binária onde é possível encontrar descontinuidade em uma estrutura (semelhante a “buracos”), a operação de fechamento é capaz de preencher estes espaços, a depender do seu tamanho e do ES utilizado (GONZALEZ, WOODS, 2010).

Figura 3 – Exemplo de operação de fechamento sendo aplicada à uma imagem binária, com ES (2x2 pixels).



4. MÉTRICAS

No contexto da segmentação de imagens, é sempre importante utilizar metodologias de validação para o processamento aplicado. Para tal, existem diferentes métricas que podem ser usadas para avaliar a performance do algoritmo desenvolvido. O resultado dessas validações se dá em comparação com alguma referência considerada como padrão ouro, como por exemplo: anotação manual de um especialista, imagem obtida com marcadores ou algum algoritmo considerado estado-da-arte em uma dada aplicação.

Quando se trata de segmentação vascular, pode-se considerar o tecido segmentado como uma classe positiva e a classe negativa correspondente ao fundo da imagem. Assim, o verdadeiro positivo (TP – *true positive*) é medido como a soma total do número de *pixels* onde ambos, o método desenvolvido e a referência, segmentaram em uma imagem. O verdadeiro negativo (TN – *true negative*) segue a mesma lógica, mas para a identificação de tecido não desejado (fundo de imagem). Os falsos positivos (FP – *false positives*) e falsos negativos (FN – *false negatives*) são calculados pela soma dos *pixels* onde apenas a referência utilizada identificou o tecido desejado ou a imagem de fundo, respectivamente (WANG, 2020).

Com base nestas medidas são calculadas medidas de sensibilidade, especificidade e acurácia. A sensibilidade (definida na Equação 14) estima a probabilidade de valores positivos que foram corretamente identificados enquanto que a especificidade (Equação 15) calcula a probabilidade de valores negativos que foram corretamente identificados. A acurácia calcula a qualidade dos valores identificados e o número de erros encontrados, conforme descrito na Equação 16:

$$\text{Sensibilidade} = \frac{P(S | sn)}{P(N | sn) + P(S | sn)} \quad (14)$$

$$\text{Especificidade} = \frac{P(N | n)}{P(N | n) + P(S | n)} \quad (15)$$

$$\text{Acurácia} = \frac{TP + TN}{TP + FN + TN + FP} \quad (16)$$

Outras medidas utilizadas são o Coeficiente de Dice (DC – *dice coefficient*) e o Índice Jaccard (JI – *Jaccard index*), definidas nas Equações 17 e 18, respectivamente. Estas duas medidas representam a similaridade entre duas imagens diferentes e são úteis para a

segmentação quando o número de *pixels* detectados é muito menor que os *pixels* de fundo (WANG, 2020).

$$JI = \frac{TP}{TP + FP + FN} \quad (17)$$

$$DC = \frac{2TP}{2TP + FP + FN} \quad (18)$$

As medidas DC e JI são semelhantes e definidas pela relação entre o número de *pixels* identificados como tecido vascular pelos dois métodos juntos (referência e método desenvolvido) e o número de *pixels* segmentados por cada um deles. Exceto que no DC, o valor de TP é duas vezes maior do que o de FP e FN.

5. ESTADO DA ARTE

Vários métodos foram propostos para a segmentação vascular completa dos mais variados órgãos. Cada algoritmo desenvolvido recentemente é baseado nos princípios dos métodos anteriores. Tem havido uma variedade de métodos desenvolvidos com diferentes abordagens, como: contornos ativos, baseados em linha central, filtragem de espaço de escala, modelos estatísticos e híbridos. Existem resultados muito relevantes desenvolvidos em todas as abordagens citadas acima, variando o tipo de aplicação e o tipo de imagem utilizada. Nesta seção, serão explicados alguns dos métodos considerados mais otimizados dentro destas vertentes (TAHER, MAHMOUD, 2018).

O método de contornos ativos é considerado um dos melhores métodos utilizados no campo clínico, onde uma imagem pode ser classificada a partir de algumas características que são usadas como base do processo. Por exemplo, existem classificações baseadas em bordas, regiões ou baseadas em maiores informações conjuntas, e em conjunto são utilizadas funções de otimização para a definição da estrutura a ser segmentada. Em Shang et al., foi proposto um método automático para extração vascular em 3D. Um conjunto de técnicas foram aplicados para solucionar diferentes problemas da imagem. Primeiramente, uma análise por contornos ativos baseada em região usando o Modelo Misto Gaussiano (GMM – *Gaussian Mixture Model*) foi utilizada para os tecidos maiores. Posteriormente, uma análise da matriz Hessiana como base para o cálculo do contorno ativo dos menores vasos. Dessa forma, o algoritmo se mostrou robusto, computacional e automático (SHANG, 2011).

Os filtros de espaço escalar funcionam convolucionando uma imagem em várias escalas usando filtros gaussianos, isso aprimora a estruturas curvilíneas onde elas se tornam mais evidentes, preservando os pequenos vasos e removendo os ruídos de aquisição. Um método proposto por Hsu et al. (HSU, 2017) para imagens de angiografia, utilizou esta metodologia em conjunto com uma equalização de intensidades. Como em imagens vasculares existe uma descontinuidade frequente de tecidos, a equalização permitiu um contraste mais homogêneo para a rede vascular, principalmente dos menores vasos. Dessa forma, após a convolução dos filtros Gaussianos, foi possível perceber a permanência da rede completa nas imagens. O coeficiente Dice utilizado para validação do método variou entre 0,92 e 0,85 a depender do tipo de imagem testada (HSU, 2017).

Os métodos estatísticos se baseiam na aplicação de modelos estatísticos matemáticos para a detecção das estruturas, analisando as próprias características da imagem, como vetores, momentos e intensidades. Uma metodologia muito promissora que tem sido bastante utilizada é a aplicação de algoritmos de aprendizado de máquina (ou *machine learning*). Em (TODOROV, PAETZOLD, 2020) um algoritmo de *machine learning* baseado em redes neurais convolucionais (CNN – *Convolutional Neural Networks*) com aprendizado automático reproduziu resultados comparados a acurácia humana de segmentação, em imagens de cérebros de camundongos, o método VesSAP (*Vessel Segmentation & Analysis Pipeline*). As imagens utilizadas foram obtidas por microscopia por fluorescência (*light-sheet microscopy*), e uma base de dados anotadas por especialistas foi aplicada no treinamento da rede neural. Ao final do processo, além da segmentação foram extraídas informações regionais sobre o cérebro analisado, baseando-se em atlas neurais. Seus resultados foram reconhecidos pelos altos índices apresentados, Jaccard e Dice de 0,85 e uma acurácia de 0,94 com velocidade de processamento de 1,19 segundos (TODOROV, PAETZOLD, 2020).

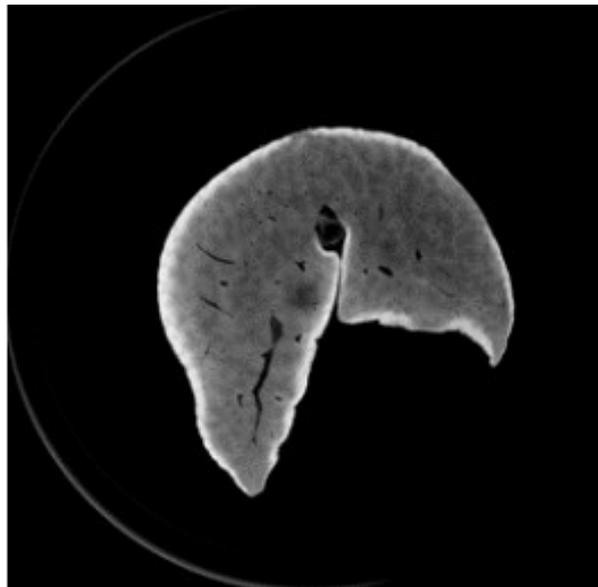
6. MATERIAIS E MÉTODOS

6.1. Bancos de Imagens

O primeiro banco de imagens utilizado foi para a seleção das imagens por SR-PCT. Todos os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com os regulamentos europeus para uso animal (EEC Council Directive 2010/63/EU). O presente estudo foi realizado em órgãos excisados de camundongos C57BL6/129sv, após perfusão intracardiaca com tampão fosfato salino seguido por formaldeído 4%. Os órgãos fixados em formaldeído foram desidratados em concentrações crescentes de etanol e condicionado em tubos plásticos cheios de etanol. A imagem foi realizada com os feixes ID17 e ID19 do *Synchrotron Research Facility* (ESRF, Grenoble, França (Figura 4)). Resumidamente, as imagens gráficas foram gravadas em 3 minutos em uma única distância do detector de amostra onde a câmera foi posicionada longe da amostra (3 m) para obter contraste de fase. Os experimentos foram realizados com um feixe policromático “rosa” de raios X incidente de energia de 26 keV. Reconstruções tomográficas foram realizadas usando a abordagem de fase de distância única de recuperação (PAGANIN, 2002) com software PyHST2, a razão δ/β sendo ajustada para 1000. As imagens reconstruídas

de fígado eram volumes brutos de 2560x2560x1400 *voxels* (8,5 Gb), com tamanho de *voxel* isotrópico de 6,5 μm , conforme exemplo mostrado na Figura 5.

Figura 4 – Exemplo de um corte da imagem SR-PCT do fígado de camundongo utilizada na segmentação vascular proposta neste trabalho.



Um total de 14 exames de arteriografia foram coletados, sete deles de morte encefálica (DE) com um total de 1073 quadros (*frames*), representados pela Figura 5, e os outros sete exames de pacientes com outros diagnósticos, com um total de 2356 quadros (*frames*) de pacientes que não tiveram morte encefálica, referenciados como outros casos (OC). O equipamento utilizado foi o equipamento de fluoroscopia "Siemens AXIOM Artis", e estes exames foram realizados no setor de hemodinâmica do Hospital da Universidade Federal de Uberlândia. As imagens estão em DICOM (*Digital Imaging Communications in Medicine*) com resolução espacial de 720x720 *pixels*, e resolução de contraste de 8 *bits* em três canais coloridos. Para extraí-las, quadro a quadro, foi utilizado o software *ImageJ* permitindo tanto a exportação de imagens quanto a visualização das mesmas.

Figura 5 – Exemplo de um quadro da imagem de arteriografia de um paciente utilizada na segmentação vascular proposta neste trabalho.



6.2. Ferramentas

A implementação do código foi feita em *Python 3* com suas diferentes ferramentas para processamento de imagens (*NumPy*, *Scikit-Image*) e com a integração do *Insight Registration and Segmentation Toolkit* (ITK 5.1). O software *ImageJ FIJI* e o software *Slicer3D* foram usados para a manipulação dos arquivos de imagem e visualização 3D dos resultados.

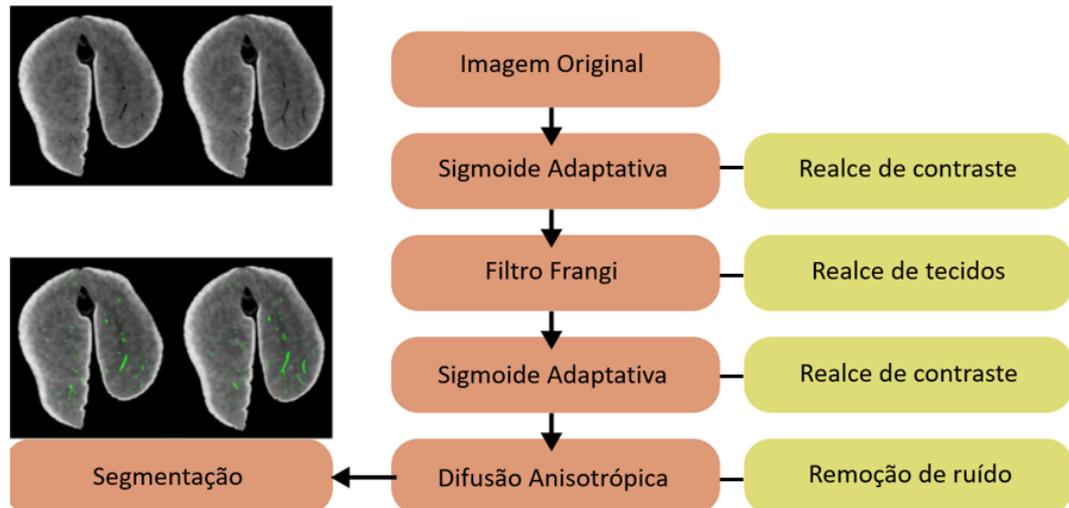
6.3. Processamento

Agora, serão descritos todos os processos necessários para a obtenção do resultado final do trabalho. Primeiramente, será descrito todo o fluxo de trabalho em cima das imagens SR-PCT e, posteriormente, todas as adaptações necessárias para a extensão do algoritmo de segmentação vascular para imagens de angiografia.

Para a segmentação vascular a partir das imagens SR-PCT foi necessária a implementação de um fluxo de processamento, também chamado de *pipeline*. Em suma, ele aplica diferentes técnicas de processamento de imagens digitais em uma sequência lógica, visando tornar mais efetiva a atuação do próximo passo até obtenção do resultado final com a

rede vascular extraída. Na Figura 6 é demonstrado por meio de um diagrama de blocos, todo o pipeline aplicado, juntamente com os motivos das escolhas realizadas.

Figura 6 – Diagrama de blocos de todo o processamento criado para a segmentação da rede vascular a partir das imagens obtidas por SR-PCT.



Do lado esquerdo superior tem-se a imagem bruta e no canto inferior do mesmo lado, a imagem bruta com a rede vascular segmentada em verde. Os blocos do lado direito explicam o motivo pela qual foi aplicado cada processamento do trabalho.

O primeiro desafio encontrado no pré-processamento deste tipo de imagem é a presença de algumas características inerentes do processo de aquisição da imagem. Por exemplo, ao redor de todo o órgão existe uma área mais clara que gera falsas detecções no filtro de Frangi. Além disso, por se tratar de um órgão como o fígado, acontece uma variação significativa na intensidade de cinza do corpo médio da estrutura e da borda mais clara. Tendo isso em vista, foi necessária a utilização de uma transformação de intensidade que fosse capaz de se adaptar à essas variações. Por isso, foi utilizada a junção do algoritmo de classificação K-Means com a transformação de intensidade por função Sigmoide (ZHANG, 2017), onde o ganho da função da transformada por Sigmoide é ajustado conforme a Equação 19:

$$I_{ajustada} = \left(1 + \exp\left(-\frac{I - \beta}{\alpha}\right) \right)^{-1} \quad (19)$$

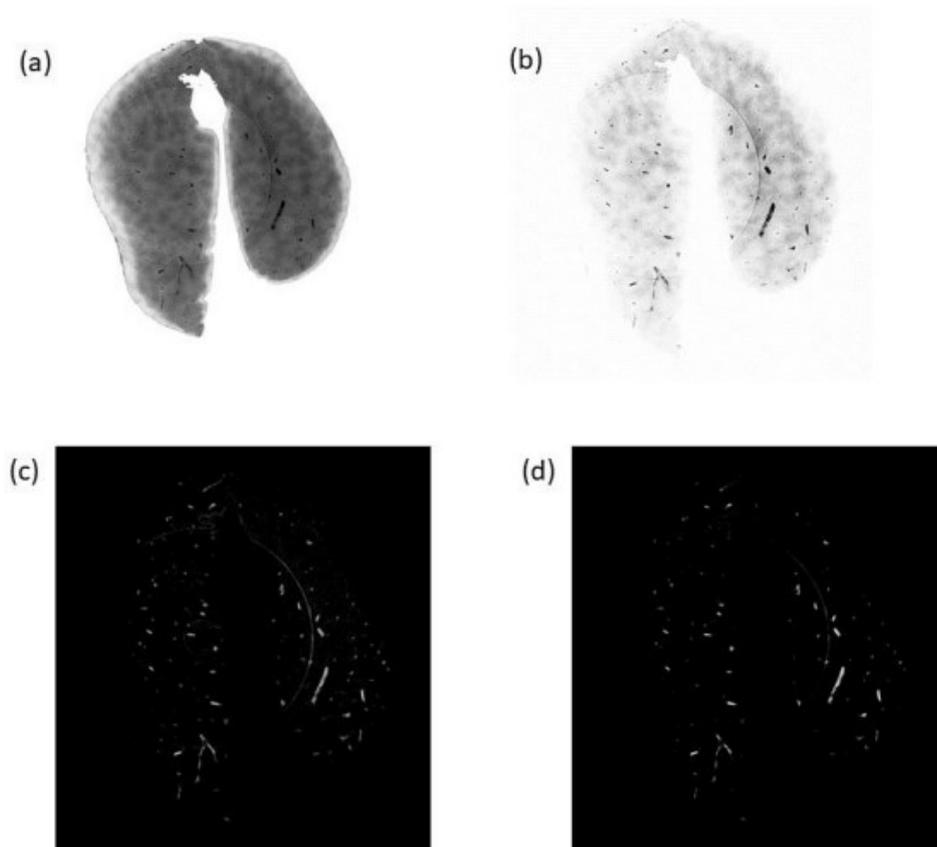
onde I representa a intensidade do pixel da imagem original, β e α representam o centro de intensidade de cinza da escala e a variação de intensidade do tecido vascular, respectivamente. Estes valores são obtidos de forma adaptativa usando o algoritmo de classificação K-means. A imagem foi separada em 9 regiões ($K = 9$) de acordo com a intensidade dos pixels em ordem ascendente, com os valores mais baixos representando o fundo e os vasos (no caso da menor intensidade de cinza), e os valores restantes representando as outras estruturas do órgão. A imagem é dividida em 9 classes a fim de separar o vaso vascular de regiões com intensidade próxima. Com a intensidade média das duas menores regiões na escala de intensidade de cinza (r_1 e r_2), o cálculo dos parâmetros β e α é definido pela Equação 20:

$$\begin{cases} \alpha = (r_2 - r_1)/2 \\ \beta = (r_2 + r_1)/2 \end{cases} \quad (20)$$

Após o realce de contraste, é realizada a filtragem de Frangi por componentes multiescala com os seguintes parâmetros: $\alpha = 1$; $\beta = 0,5$; $\gamma = 5,0$; os valores de σ , que representa a intensidade de um filtro Gaussiano no espaço escalar, foram determinados dentro de um intervalo de 1 a 10, com 5 iterações, conforme recomendados pelo fabricante para aplicações de classificação vascular. Porém, ainda existe a presença de detecções de intensidade mediana na imagem devido ao realce de alguns ruídos.

A fim de reduzir estes realces de estruturas não desejadas, outra transformada de intensidade por função Sigmoidal de forma adaptativa foi aplicada com um filtro de atenuação de difusão anisotrópica na sequência. Os parâmetros do filtro de difusão seguiram as recomendações da empresa desenvolvedora da biblioteca: fator de condutância = 15, iterações = 5 e variável "t" = 0,0625. Os resultados de cada estágio de processamento estão demonstrados na Figura 8.

Figura 7 – Representação dos resultados de cada processamento aplicado a imagem original (a), transformada por sigmoide adaptativa (b), filtro de Frangi (c), segunda sigmoide e difusão anisotrópica (d).



Nesta fase, a imagem já foi pré-processada com realce vascular e filtragem para minimizar o ruído. Normalmente, após o realce das estruturas desejadas, são aplicadas técnicas de limiarização com o objetivo de binarizar a imagem entre o fundo e o tecido vascular. Entretanto, as imagens SR-PCT têm um grande campo de visão (FOV) (2560 *pixels* por 2560 *pixels* com 1 *pixel* ~ 8 μm para o fígado), sendo que uma pequena porção é tecido vascular, conforme mostra a Figura 8. Portanto, as técnicas de limiarização não são muito eficazes para este tipo de imagem.

Uma vez que a imagem tenha sido pré-processada, novamente é utilizado o algoritmo K-Means com uma definição de 2 regiões ($K=2$) para binarizar a imagem, dando intensidade máxima ao tecido segmentado e zero para o resto da imagem. Por fim, uma operação

morfológica de fechamento é aplicada para preencher espaços mal segmentados no lúmen dos vasos sanguíneos, com um elemento estruturante de dimensões 5×5 *pixels*.

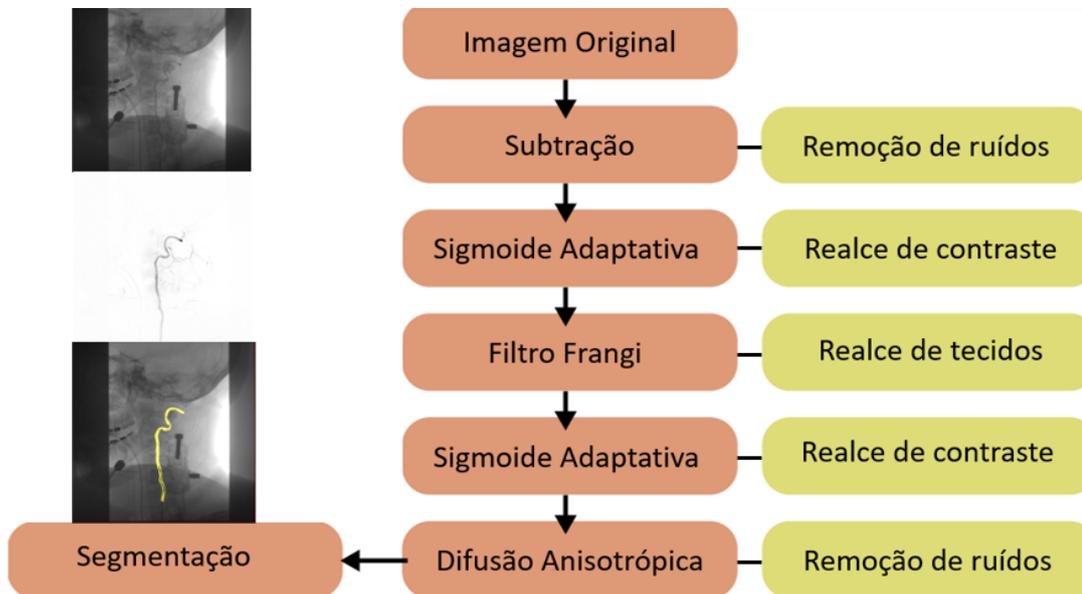
Figura 8 – Histograma de uma imagem por SR-PCT obtido através do software ImageJ. Aqui, é mostrada a má distribuição de intensidade ao longo da escala 8 bits de cinza.



6.4. Adaptação do algoritmo

Para a adaptação da metodologia de segmentação vascular para as imagens de arteriografia foram necessárias algumas alterações no fluxo de processamento. Uma delas, foi a subtração pixel a pixel dos frames das tomadas, com o objetivo de eliminar artefatos da imagem. Estes artefatos podem ser desde estruturas ósseas do paciente até a estrutura do cateter utilizado no exame. Ao final deste processo, a imagem resultante possui as estruturas sanguíneas acrescentadas de alguns ruídos que não são eliminados na subtração (Figura 9). O restante do fluxo de processamento permaneceu o mesmo, com a mesma parametrização.

Figura 9 – Diagrama de blocos de todo o processamento criado para a segmentação da rede vascular a partir das imagens obtidas por arteriografia.



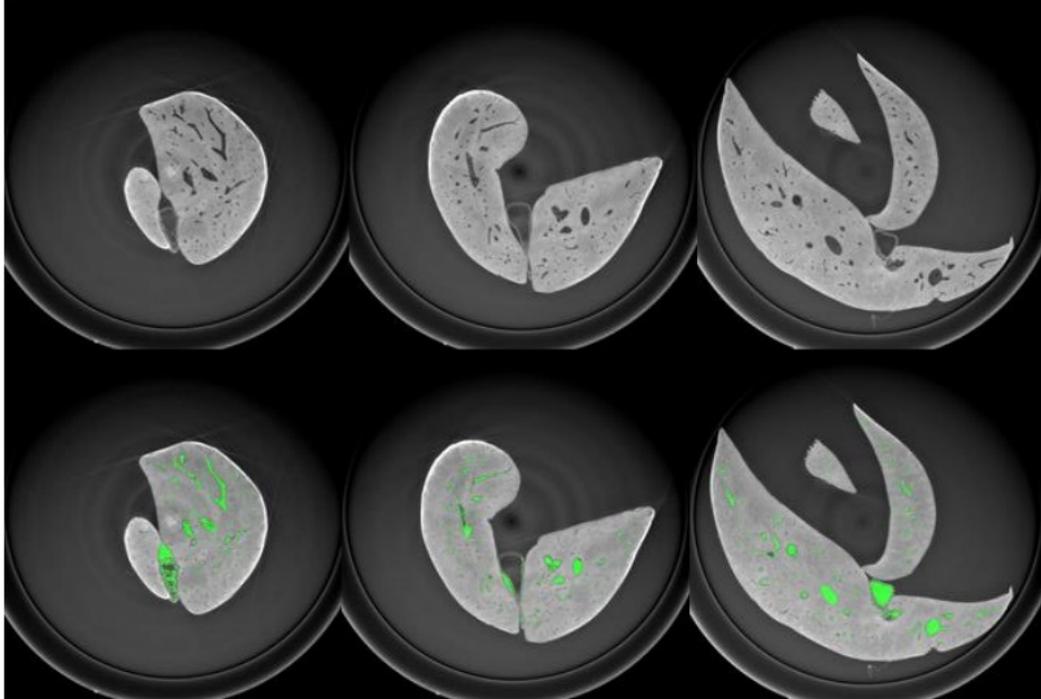
Do lado esquerdo superior tem-se a imagem bruta, abaixo a imagem subtraída e no canto inferior do mesmo lado, a imagem bruta com a rede vascular segmentada em amarelo.

7. RESULTADOS

Nesta seção serão apresentados os resultados obtidos a partir do algoritmo de segmentação vascular desenvolvido e adaptado. Primeiramente, serão mostrados os resultados da segmentação aplicada às imagens por SR-PCT, juntamente de todos os coeficientes de performance avaliados sobre a metodologia. Posteriormente, os resultados aplicados após a adaptação do algoritmo para imagens de arteriografia e uma quantificação do volume vascular presente na imagem.

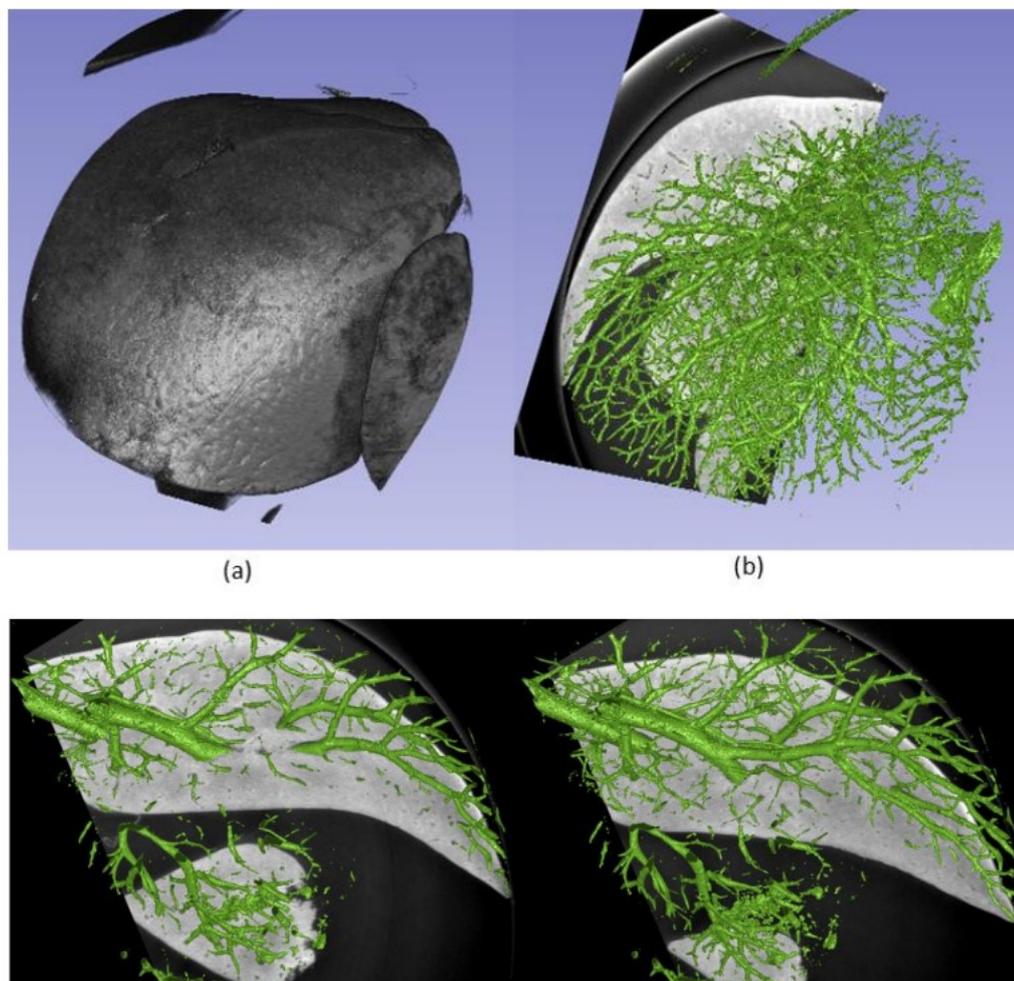
Os resultados obtidos a partir das imagens por SR-PCT se mostraram promissores, abaixo estão dispostos os resultados da segmentação da rede vascular hepática. As imagens mostram a imagem do fígado de camundongo sem tratamento e uma imagem com a sobreposição da rede extraída. Como estas imagens são volumes em 3D, para uma melhor visualização do resultado, foi colocado um conjunto de 3 fatias diferentes do volume original.

Figura 10 – Resultados do processo de segmentação vascular das imagens de fígado de camundongo por SR-PCT. Em cima temos 3 cortes da imagem original bruta e abaixo os mesmos 3 cortes sobrepostos pelo resultado do algoritmo em verde.



Para melhor visualização da efetividade na detecção da rede vascular, foi utilizado o software Slicer3D para a renderização do volume obtido a partir do algoritmo (Figura 11). Como é possível observar, a característica arborescente dos tecidos vasculares é presente na imagem e a continuidade das ramificações é notável, principalmente dos maiores tecidos.

Figura 11 – Renderização em 3D da rede vascular extraída a partir de imagens do fígado de camundongo obtidas por SR-PCT. Em (a) o órgão renderizado, (b) a rede extraída em verde e um corte da imagem projetado para indicar a região segmentada. Abaixo, uma aproximação de uma região para melhor visualização dos detalhes.



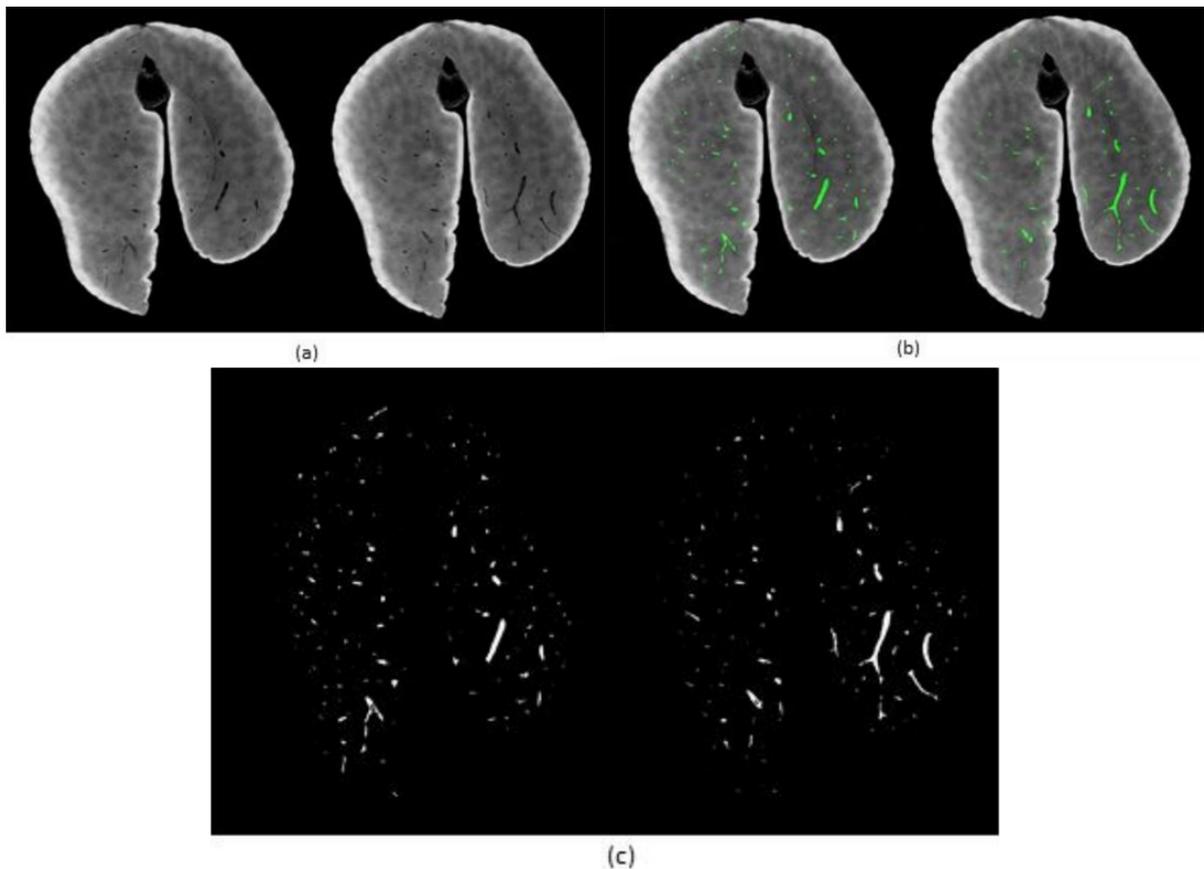
Para a aferição dos coeficientes de performance do algoritmo, foi desenvolvida uma anotação manual em uma imagem exemplo. A partir de um volume de 10 cortes da imagem, foram demarcadas as estruturas vasculares manualmente utilizando o software ImageJ (Figura 12). Como resultado, foi obtida uma máscara binária que foi utilizada como referência para a comparação com a metodologia desenvolvida. Os resultados presentes na Tabela 2 mostram as métricas avaliadas em cada estágio do processamento. É possível perceber que, o fluxo de processamento desenvolvido foi ampliando a performance do algoritmo.

Tabela 2 – Avaliação dos indicadores de performance sobre o processamento de segmentação vascular desenvolvido no trabalho.

Processamento	Dice	Jaccard	Acurácia	Sensibilidade	Especificidade
Sigmoide + Frangi	0,62	0,45	0,993	0,91	0,994
Sigmoide + Frangi + Sigmoide	0,68	0,52	0,996	0,77	0,997
Sigmoide + Frangi + Sigmoide + Difusão	0,70	0,54	0,996	0,85	0,997
Algoritmo Completo	0,71	0,55	0,996	0,79	0,997

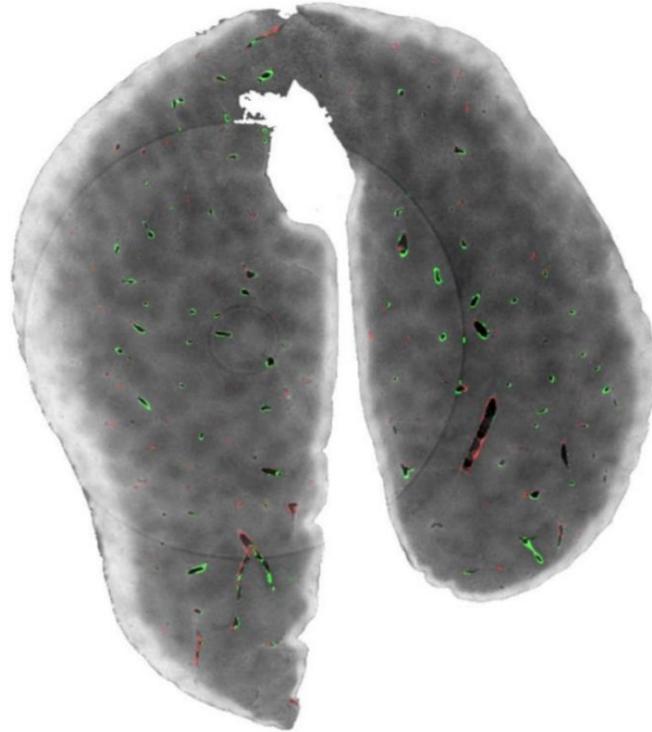
Estes resultados foram obtidos com a comparação das segmentações e a anotação manual criada como referência. A cada linha da tabela tem-se uma etapa adicionada ao fluxo de processamento, mostrando o aumento da performance a cada estágio.

Figura 12 – Resultado da anotação manual dos tecidos vasculares para a criação de uma referência. Em (a) dois cortes da imagem original, (b) os dois cortes originais com os tecidos vasculares anotados em verde e (c) o resultado da segmentação manual.



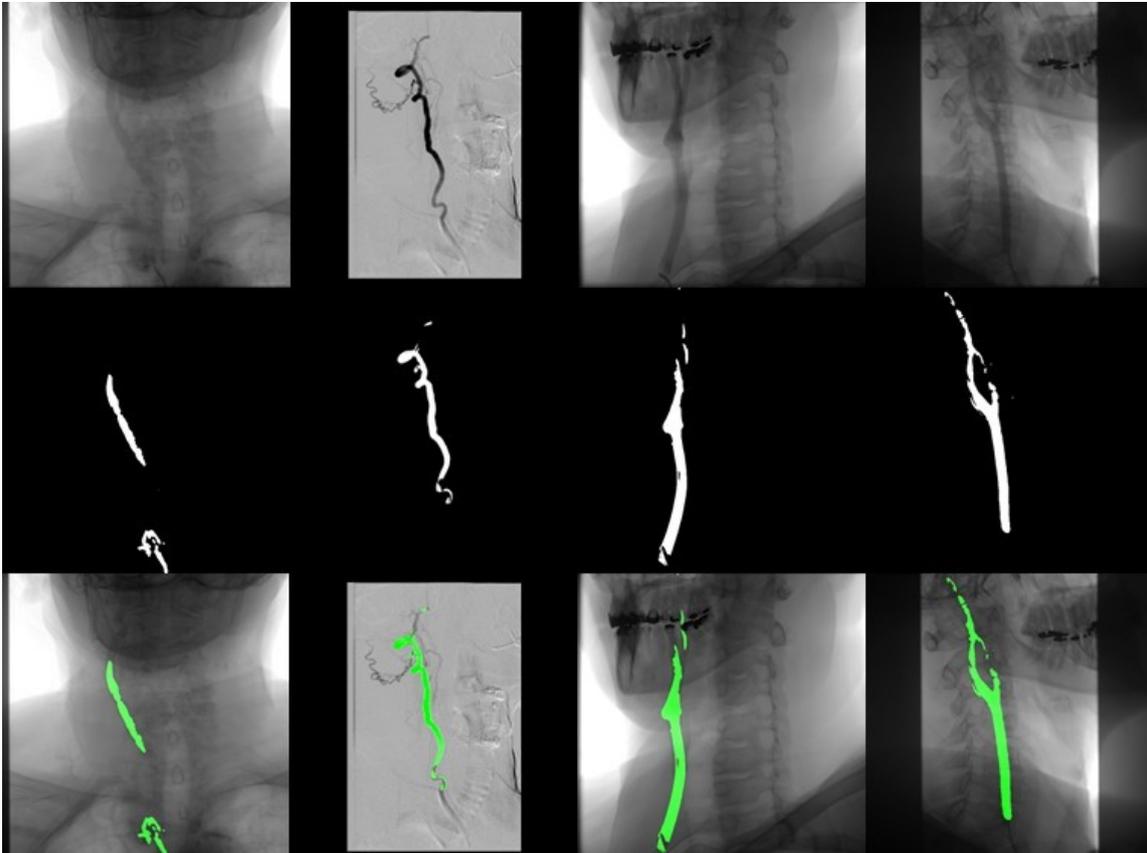
Ademais, a fim de verificar as regiões onde o algoritmo tem mais falhas de detecção, foi feita a sobreposição das regiões marcando os falsos positivos e os falsos negativos identificados pelo algoritmo. Com isso, foi possível observar que as falsas detecções são geralmente próximas aos tecidos e esta super-segmentação pode ser devida à atenuação usada na análise multiescala do filtro Frangi. O resultado foi mostrado na Figura 13.

Figura 13 – Sobreposição das falsas detecções obtidas no resultado da segmentação desenvolvida. Em vermelho os falsos negativos e em verde os falsos positivos.



Após a validação do algoritmo desenvolvido com imagens por SR-PCT, uma extensão da aplicação foi realizada com o processamento de imagens de arteriografia, usadas em diagnósticos de morte encefálica. Diferentes tomadas foram analisadas com o método de segmentação proposto, os resultados estão dispostos na Figura 14.

Figura 14 – Resultados das segmentações de diferentes tomadas. Cada coluna representa um frame de uma tomada, a primeira linha sendo a original, a segunda só a segmentação e a terceira a sobreposição das duas.



Os processamentos foram realizados em dois grupos de pacientes: com morte encefálica e sem morte encefálica, com o objetivo de avaliar se é possível utilizar da segmentação vascular para auxiliar diagnósticos médicos, com base no volume vascular encontrado. Os resultados estão dispostos na Tabela 3.

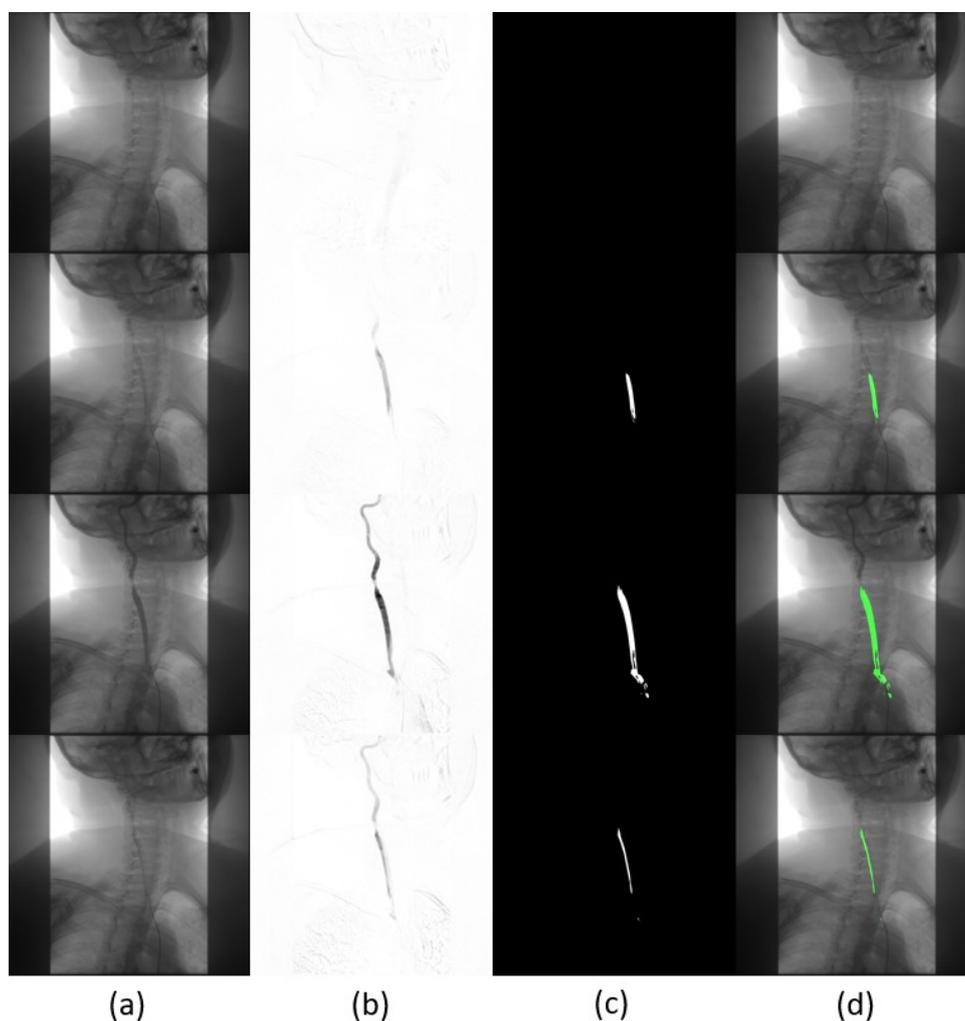
Tabela 3 – Avaliação das segmentações aplicadas aos dois grupos analisados de arteriografia.

Tomadas	Desfecho	z	y	x	Total (pixels)	Detectados (pixels)	% do total
1	SEM MORTE	35	720	720	18144000	205128	1,13
2	SEM MORTE	27	1024	1024	28311552	167097	0,59
3	SEM MORTE	19	720	720	9849600	128910	1,31
4	SEM MORTE	26	720	720	13478400	562592	4,17
5	SEM MORTE	39	720	720	20217600	2121166	10,49
6	SEM MORTE	29	720	720	15033600	190298	1,27
7	SEM MORTE	26	720	720	13478400	316706	2,35

8	SEM MORTE	40	960	960	36864000	238947	0,65
9	MORTE	31	960	960	28569600	236123	0,83
10	MORTE	35	960	960	32256000	146283	0,45
11	MORTE	36	1024	1024	37748736	803480	2,13
12	MORTE	40	1024	1024	41943040	990848	2,36
13	MORTE	15	720	720	7776000	37566	0,48
14	MORTE	44	1024	1024	46137344	450155	0,98
15	MORTE	26	1024	1024	27262976	195319	0,72
16	MORTE	30	1024	1024	31457280	203835	0,65
17	MORTE	23	960	960	21196800	156286	0,74
18	MORTE	15	960	960	13824000	69694	0,50

Apesar de alguns casos apresentarem uma diferença de volume segmentado em cada desfecho, em todo o contexto isto não fica tão evidente. Isso pode se dar ao fato das variações entre as tomadas, onde um determinado frame pode apresentar grande volume segmentado, mas que em um contexto geral de diferentes tomadas de um mesmo paciente, pode ser apresentada uma diferença mais significativa.

Figura 15 – Resultados de cada processo do fluxo de segmentação de diferentes tomadas de um mesmo exame.



Na coluna (a) tem-se as tomadas originais de um exame de arteriografia, em (b) temos o resultado da subtração das imagens de um frame padrão, em (c) temos o resultado da segmentação e em (d) temos a sobreposição da segmentação sobre as imagens originais. É possível perceber aqui que o algoritmo proposto consegue identificar as maiores densidades de fluxo sanguíneo. Apesar de a extração de métricas de volume vascular não demonstrarem grandes diferenças dos dois grupos, o auxílio na inspeção visual de um especialista pode ser identificada.

8. CONCLUSÃO

A segmentação de estruturas vasculares em imagens médicas é de suma importância para as mais diversas aplicações, desde estudos pré-clínicos dos efeitos danosos à rede vascular por patologias até o auxílio em diagnósticos de morte cerebral. O uso de métodos digitais de segmentação facilita ainda mais as aplicações, oferecendo escalabilidade, maior volume de diagnósticos e maior extração de detalhes para análise de um especialista. Analisando o algoritmo proposto no presente trabalho, observa-se que é possível a extensão de uma mesma metodologia de segmentação vascular com pouca ou quase nenhuma alteração de parâmetros.

Por meio da extensão da aplicação do algoritmo em imagens de arteriografia, foi possível observar que a metodologia proposta consegue performar em tipos de imagens distintas. Apesar de sua validação ter sido mensurada a partir de imagens SR-PCT, os resultados em exames de arteriografia apresentaram resultados visualmente interessantes. Pode-se perceber que as segmentações conseguem mapear os maiores vasos sanguíneos sem muita interferência de outras estruturas.

Por mais que as métricas de performance não possam ser aplicadas igualmente aos dois tipos de imagem, os resultados apresentados se mostram promissores. Foi possível perceber que o estado final do fluxo de processamento proposto ofereceu as maiores performances em acurácia, precisão e sensibilidade. Isto abre uma oportunidade para o aprofundamento da aplicação com a utilização de bases de dados maiores e de referências de segmentação para validação da acurácia da metodologia. Além disso, a extensão pode ser ampliada em outros tipos de imagens aqui não tratados como imagens por micro-ressonância magnética ou até tomografias de diversos outros órgãos.

Em conclusão, apesar das extrações do volume vascular não terem demonstrado uma diferença entre os dois desfechos analisados para diagnóstico automático de morte cerebral, os resultados podem ser aplicados como uma etapa de auxílio ao profissional radiologista. Além disso, também é possível que as variações entre as diferentes tomadas não tenham oferecido o padrão necessário para a identificação de um comportamento único entre cada tipo de desfecho.

Em uma perspectiva para trabalhos futuros, pode-se dizer que existe um leque de opções a serem trabalhadas. Desde a extensão a outros tipos de imagens, validação de métricas com bases de dados maiores até a busca por um diagnóstico automático, o presente trabalho abre portas para um aprofundamento na possível característica multimodal da metodologia

desenvolvida. As métricas já validadas podem inclusive ser aprimoradas com a junção de outros processamentos ao fluxo de processo proposto, aumentando a performance já conhecida.

REFERÊNCIAS

BAYAT, Sam. Functional lung imaging with synchrotron radiation: Methods and preclinical applications. **Physica medica: PM: an international journal devoted to the applications of physics to medicine and biology: official journal of the Italian Association of Biomedical Physics (AIFB)**, v. 79, p. 22–35, 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33070047/>>. Acesso em: 15 out. 2021.

BRAUN, M. Intravenous angiography in brain death: report of 140 patients. **Neuroradiology**, v. 39, n. 6, p. 400–405, 1997.

DHANACHANDRA, Nameirakpam. Image Segmentation Using K -means Clustering Algorithm and Subtractive Clustering Algorithm. **Procedia Computer Science**, v. 54, p. 764–771, 2015.

FERNÁNDEZ, Mercedes. Angiogenesis in liver disease. **Journal of Hepatology**, v. 50, n. 3, p. 604–620, 2009.

FRANGI, A. F. Multiscale Vessel Enhancement Filtering. **Med. Image Comput. Comput. Assist. Interv.**, v. 1496, 2000.

GARRETT, Mark P. Computed tomography angiography as a confirmatory test for the diagnosis of brain death. **Journal of Neurosurgery**, v. 128, n. 2, p. 639–644, 2018.

GEOFF DOUGHERTY. **Digital image processing for medical applications**. Cambridge: Cambridge University Press, 2009.

- GIULIANI, Alessandra. Synchrotron Phase Tomography: An Emerging Imaging Method for Microvessel Detection in Engineered Bone of Craniofacial Districts. **Frontiers in Physiology**, v. 8, 2017.
- GOYAL, A. Model-Based Vasculature Extraction From Optical Fluorescence Cryomicrotome Images. **IEEE Transactions on Medical Imaging**, v. 32, n. 1, p. 56–72, 2013.
- HSU, Chih-Yang. Gap-free segmentation of vascular networks with automatic image processing pipeline. **Computers in Biology and Medicine**, v. 82, p. 29–39, 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0010482517300173>>. Acesso em: 9 abr. 2022.
- JUDKINS, Melvin P. Selective Coronary Arteriography. **Radiology**, v. 89, n. 5, p. 815–824, 1967.
- KAMALAVENI, V. Image Denoising Using Variations of Perona-Malik Model with Different Edge Stopping Functions. **Procedia Computer Science**, v. 58, p. 673–682, 2015.
- KANNAN, P. ; DEEPA, S. Contrast Enhancement of Sports Images Using Two Comparative Approaches. **American Journal of Intelligent Systems**, v. 2, n. 6, p. 141–147, 2012.
- KLOHS, Jan. Imaging of cerebrovascular pathology in animal models of Alzheimer’s disease. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 6, 2014.
- LAMY, Jonas. Vesselness Filters: A Survey with Benchmarks Applied to Liver Imaging. **2020 25th International Conference on Pattern Recognition (ICPR)**, 2021.
- LANGER, M. Quantitative investigation of bone microvascularization from 3D synchrotron micro-computed tomography in a rat model. **2009 Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society**, 2009.

LEBRE, Marie-Ange; VACAVENT, Antoine ; ROSITI, Hugo. Automatic segmentation methods for liver and hepatic vessels from CT and MRI volumes, applied to the Couinaud scheme. **Computers in Biology and Medicine**, v. 110, p. 42–51, 2019.

PAGANIN, D. Simultaneous phase and amplitude extraction from a single defocused image of a homogeneous object. **Journal of Microscopy**, v. 206, n. 1, p. 33–40, 2002.

PANDEY, Rahul ; LALCHHANHIMA, R. Segmentation Techniques for Complex Image: Review. **2020 International Conference on Computational Performance Evaluation (ComPE)**, 2020.

PERONA, P. ; MALIK, J. Scale-space and edge detection using anisotropic diffusion. **IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence**, v. 12, n. 7, p. 629–639, 1990.

SATO, Yoshinobu. Three-dimensional multi-scale line filter for segmentation and visualization of curvilinear structures in medical images. **Medical Image Analysis**, v. 2, n. 2, p. 143–168, 1998.

SHANG, Yanfeng. Vascular Active Contour for Vessel Tree Segmentation. **IEEE Transactions on Biomedical Engineering**, v. 58, n. 4, p. 1023–1032, 2011.

SHI, Shupeng. Non-destructive 3D Microtomography of Cerebral Angioarchitecture Changes Following Ischemic Stroke in Rats Using Synchrotron Radiation. **Frontiers in Neuroanatomy**, v. 13, 2019.

SNIGIREV, A. On the possibilities of x-ray phase contrast microimaging by coherent high-energy synchrotron radiation. **Review of Scientific Instruments**, v. 66, n. 12, p. 5486–5492, 1995.

TAHER, Fatma ; MAHMOUD, Ali. A Review on the Cerebrovascular Segmentation Methods. **2018 IEEE International Symposium on Signal Processing and Information Technology (ISSPIT)**, 2018.

TODOROV, Mihail Ivilinov ; PAETZOLD, Johannes Christian. Machine learning analysis of whole mouse brain vasculature. **Nature Methods**, v. 17, n. 4, p. 442–449, 2020.

UMETANI, Keiji. High-resolution wide-field synchrotron radiation micro-CT for large human lung specimen imaging. **Advanced Optical Imaging Technologies**, 2018.

WANG, Zhaobin. Image segmentation evaluation: a survey of methods. **Artificial Intelligence Review**, v. 53, n. 8, p. 5637–5674, 2020.

ZHANG, Meng-Qi. Ultra-high-resolution 3D digitalized imaging of the cerebral angioarchitecture in rats using synchrotron radiation. **Scientific Reports**, v. 5, n. 1, 2015.

ZHANG, Rui. An Improved Fuzzy Connectedness Method for Automatic Three-Dimensional Liver Vessel Segmentation in CT Images. **Journal of Healthcare Engineering**, v. 2018, p. 1–18, 2018.

ZHAO, Fengjun. Segmentation of blood vessels using rule-based and machine-learning-based methods: a review. **Multimedia Systems**, v. 25, n. 2, p. 109–118, 2017.