

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ENGENHARIA ELÉTRICA
PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA

LUAN PRINCE FERREIRA

**CARACTERIZAÇÃO DE IMAGENS DE TECIDO MAMÁRIO FELINO
CORADO COM *PICROSIRIUS RED***

Uberlândia - MG

2025

LUAN PRINCE FERREIRA

CARACTERIZAÇÃO DE IMAGENS DE TECIDO MAMÁRIO FELINO CORADO
COM *PICROSIRIUS RED*

Dissertação de mestrado submetida
ao Programa de Pós-graduação em
Engenharia Biomédica da
Universidade Federal de Uberlândia,
como requisito parcial à obtenção do
título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Engenharia Biomédica

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Ana Claudia Patrocínio

Uberlândia – MG

2025

LUAN PRINCE FERREIRA

CARACTERIZAÇÃO DE IMAGENS DE TECIDO MAMÁRIO FELINO CORADO
COM *PICROSIRIUS RED*

Dissertação de mestrado submetida
ao Programa de Pós-graduação em
Engenharia Biomédica da
Universidade Federal de Uberlândia,
como requisito parcial à obtenção do
título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Engenharia Biomédica

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Ana Claudia Patrocínio

Banca examinadora:

Ana Cláudia Patrocínio

Mariana Fernandes Jorge

Pedro Cunha Carneiro

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

F383 2025	Ferreira, Luan Prince, 1997- CARACTERIZAÇÃO DE IMAGENS DE TECIDO MAMÁRIO FELINO CORADO COM PICROSIRIUS RED [recurso eletrônico] / Luan Prince Ferreira. - 2025. Orientadora: Ana Cláudia Patrocínio. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Engenharia Biomédica. Modo de acesso: Internet. DOI http://doi.org/10.14393/ufu.di.2026.38 Inclui bibliografia. Inclui ilustrações. 1. Engenharia biomédica. I. Patrocínio, Ana Cláudia, 1976-, (Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Engenharia Biomédica. III. Título. CDU: 62:61
--------------	---

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

Dedicatória

À criatividade da mente humana, força que inspira descobertas, impulsiona perguntas e sustenta a busca incessante pelo conhecimento.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, à minha família, pelo apoio incondicional, incentivo diário e compreensão ao longo de toda esta jornada. Aos amigos, que contribuíram com palavras de motivação, companhia nos momentos difíceis e celebração nas conquistas.

Registro minha gratidão aos professores, a orientadora e aos colegas de pesquisa, cujo conhecimento, dedicação e generosidade intelectual foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho. A todos os profissionais e instituições que, de alguma forma, colaboraram com dados, infraestrutura, debates ou sugestões, deixo aqui o meu sincero reconhecimento.

Agradeço também aos que contribuíram indiretamente, por meio de gestos de apoio, conversas inspiradoras ou simples demonstrações de confiança que fortaleceram minha caminhada acadêmica.

E a você, leitor, que dedica seu precioso tempo à leitura deste trabalho, deixo um agradecimento especial. Espero que o conteúdo aqui apresentado contribua de alguma forma para a sua produção científica e desperte novas reflexões e possibilidades.

“Só é lutador quem sabe lutar consigo mesmo. ”

Carlos Drummond de Andrade

RESUMO

O carcinoma mamário felino representa a terceira maior incidência tumoral em gatas. Ele exibe um comportamento agressivo e uma alta taxa de mortalidade devido ao seu padrão invasivo e metastático, tornando-o um modelo relevante para estudos comparativos com o câncer de mama. As alterações estromais, como o aumento da deposição de colágeno, estão associadas à agressividade do tumor e podem ser avaliadas por meio de técnicas histológicas como o *Picrosirius Red* (PSR), complementando a coloração de rotina Hematoxilina-Eosina (HE) utilizada para o diagnóstico histopatológico. Métodos computacionais, incluindo a extração de características e a inteligência artificial, possibilitam a análise de imagens para aumentar a precisão diagnóstica. Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo classificar imagens de tecido mamário felino saudável e tumoral, coradas com PSR de acordo com a graduação histopatológica. Para isso, buscou-se por métodos envolvendo a quantificação de colágeno nas imagens, a caracterização delas através de descritores de textura de Haralick e análise estatística, com uso de curvas gaussianas para realizar a seleção. Por fim, foram utilizados modelos de aprendizado de máquina baseados em *Random Forest* (RF), *XGBoost* (XGB) e *Multilayer Perceptron* (MLP), com as características selecionadas. Sete características foram selecionadas para classificar imagens de tecido saudável de tumor, e cinco características foram selecionadas para distinguir tumores de baixo e alto grau. MLP apresentou o melhor desempenho na classificação entre tecido saudável (26 de 28 imagens) e tumor (30 de 30 imagens), atingindo 96,4% de acurácia no conjunto de teste, enquanto XGB demonstrou desempenho superior na diferenciação de tumores de baixo (30 de 38 imagens) e alto grau (36 de 27 imagens), com 88,0%. *Skewness* e *kurtosis* contribuíram para a classificação entre imagens de tecido saudável e alterado, mas não foram eficazes na distinção de tecido carcinogênico de baixo e alto grau. Uma quantidade parcial de descritores de Haralick contribuiu para ambas as tarefas de classificação, principalmente devido à sua capacidade de capturar a heterogeneidade dos tecidos tumorais, em relação à deposição de colágeno na carcinogênese, da homogeneidade de fibras colágenas mais delgadas do tecido mamário felino saudável. Os resultados reforçam o potencial da análise de textura combinada com métodos de inteligência artificial como uma ferramenta complementar à avaliação histopatológica e para a melhoria da acurácia diagnóstica em oncologia veterinária. Mediante a refinamentos, é possível que o mesmo método auxilie no diagnóstico do câncer de mama.

Palavras-chave: carcinoma mamário felino; colágeno; gata; *Random Forest*; *Multilayer Perceptron*; *XGBoost*.

ABSTRACT

Feline mammary carcinoma represents the third most frequent tumor in queens. It exhibits aggressive behavior and a high mortality rate due to its invasive and metastatic pattern, making it a relevant model for comparative studies with breast cancer. Stromal alterations, such as increased collagen deposition, are associated with tumor aggressiveness and can be evaluated using histological techniques such as Picrosirius Red (PSR), complementing the routine Hematoxylin–Eosin (H&E) staining used for histopathological diagnosis. Computational methods, including feature extraction and artificial intelligence, enable image analysis to improve diagnostic accuracy. In this context, the present study aimed to classify images of healthy and tumoral feline mammary tissue stained with PSR according to histopathological grading. To this end, methods involving collagen quantification in the images were employed, as well as image characterization using Haralick texture descriptors and statistical analysis, with Gaussian curves applied for feature selection. Finally, machine learning models based on Random Forest (RF), XGBoost (XGB), and Multilayer Perceptron (MLP) were used with the selected features. Seven features were selected to classify healthy tissue and tumor images, and five features were selected to distinguish low- and high-grade tumors. The MLP model achieved the best performance in classifying healthy tissue (26 of 28 images) and tumor tissue (30 of 30 images), reaching 96.4% accuracy on the test set, whereas XGB demonstrated superior performance in differentiating low-grade (30 of 38 images) and high-grade tumors (36 of 27 images), achieving 88.0% accuracy. Skewness and kurtosis contributed to the classification between healthy and altered tissue images but were not effective in distinguishing low- and high-grade carcinogenic tissue. A subset of Haralick descriptors contributed to both classification tasks, mainly due to their ability to capture the heterogeneity of tumor tissues regarding collagen deposition during carcinogenesis, in contrast to the homogeneity of thinner collagen fibers in healthy feline mammary tissue. These results reinforce the potential of texture analysis combined with artificial intelligence methods as a complementary tool to histopathological evaluation and for improving diagnostic accuracy in veterinary oncology. With further refinements, the same approach may also assist in the diagnosis of breast cancer.

Keywords: cat; collagen; feline mammary carcinoma; Multilayer Perceptron; Random Forest; XGBoost.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Modelo genérico de árvore de decisão.	37
Figura 2. Modelo demonstrativo do funcionamento de uma <i>Random Forest</i>	39
Figura 3. Modelo demonstrativo do funcionamento de um <i>XGBoost</i>	41
Figura 4. Comparativo entre neurônio biológico e <i>Perceptron</i>	44
Figura 5. Funcionamento do algoritmo <i>Perceptron</i>	45
Figura 6. Exemplos de imagens de amostras de tecido mamário felino, coradas com PSR e fotografadas sobre luz polarizada. (A) controle / centro; (B) grau I / periferia; (C) grau II / centro; (D) grau III / periferia.	54
Figura 7. Comparação entre os resultados obtidos na quantificação de fibras colágenas, de uma imagem reprovada no primeiro método. (A) imagem original; (B) resultado visual da quantificação com o primeiro método; (C) resultado visual quantificação com o segundo método.	58
Figura 8. Comparação entre os resultados obtidos na quantificação de fibras colágenas, de uma imagem que já havia sido aprovada no primeiro método. (A) imagem original; (B) resultado visual da quantificação com o primeiro método; (C) resultado visual quantificação com o segundo método.	58
Figura 9. Comparação entre os resultados obtidos na quantificação de fibras colágenas, de uma imagem que reprovada em ambos os métodos. (A) imagem original; (B) resultado visual da quantificação com o primeiro método; (C) resultado visual quantificação com o segundo método.	59
Figura 10. Exemplos de imagens utilizadas neste trabalho. (A) controle / centro; (B) imagem A em escala de cinza; (C) grau I / periferia; (D) imagem C em escala de cinza; (E) grau II / centro; (F) imagem E em escala de cinza; (G) grau III / periferia; (H) imagem G em escala de cinza.	61
Figura 11. Curvas gaussianas “controle/baixo grau/alto grau”	65
Figura 12. Curvas gaussianas dos atributos considerados, do agrupamento “controle centro vs. controle periferia vs. tumor centro vs. tumor periferia”	67
Figura 13. Curvas gaussianas de atributos de textura das classes controle e tumor.	78
Figura 14. Curvas gaussianas de atributos das classes controle e tumor, apenas considerando a localização centro.	80
Figura 15. Curvas gaussianas de atributos das classes controle e tumor, apenas considerando a localização periferia.	81

Figura 16.	Curvas gaussianas de atributos das classes baixo grau e alto grau.....	82
Figura 17.	Curvas gaussianas de atributos das classes baixo grau e alto grau, apenas considerando a localização centro.	84
Figura 18.	Curvas gaussianas de atributos das classes baixo grau e alto grau, apenas considerando a localização periferia.	85
Figura 19.	Importância dos atributos conforme MDI, para a classificação controle/tumor. (A) Modelo baseado em RF; (B) Modelo baseado em XGB.	89
Figura 20.	Importância dos atributos conforme MDI, para a classificação baixo grau/alto grau. (A) Modelo baseado em RF; (B) Modelo baseado em XGB.	91
Figura 21.	Curvas gaussianas do comparativo entre fibras colágenas do tipo I e III dos grupos controle e tumor.....	93
Figura 22.	Curvas gaussianas do comparativo entre fibras colágenas dos grupos baixo grau e alto grau.	94
Figura 23.	Matriz de confusão e Curva ROC do modelo RF treinado com sete atributos, na classificação controle/tumor.	97
Figura 24.	Matriz de confusão e Curva ROC do modelo XBG na classificação controle/tumor.	97
Figura 25.	Matriz de confusão e Curva ROC do modelo MLP com sete atributos na entrada, na classificação controle/tumor.	98
Figura 26.	Matriz de confusão e Curva ROC do modelo RF treinado com 15 atributos, na classificação controle/tumor.	99
Figura 27.	Matriz de confusão e Curva ROC do modelo XGB treinado com 15 atributos, na classificação controle/tumor.	100
Figura 28.	Matriz de confusão e Curva ROC do modelo MLP treinado com 15 atributos, na classificação controle/tumor.	100
Figura 29.	Matriz de confusão e Curva ROC do modelo RF na classificação baixo grau/alto grau.....	103
Figura 30.	Matriz de confusão e Curva ROC do modelo XGB na classificação baixo grau/alto grau.....	104
Figura 31.	Matriz de confusão e Curva ROC do modelo MLP na classificação baixo grau/alto grau.....	105
Figura 32.	Matriz de confusão e Curva ROC do modelo RF, treinado com 15 atributos, na classificação baixo grau/alto grau.	105

Figura 33. Matriz de confusão e Curva ROC do modelo XGB, treinado com 15 atributos, na classificação baixo grau/alto grau.....	106
Figura 34. Matriz de confusão e Curva ROC do modelo MLP, treinado com 15 atributos, na classificação baixo grau/alto grau.....	107

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Os 14 descritores de Haralick.....	31
Tabela 2.	Descrição do banco de imagens considerado.....	54
Tabela 3.	Lista de atributos considerados neste estudo.....	63
Tabela 4.	Imagens consideradas na análise “controle vs. baixo grau vs. alto grau”..	64
Tabela 5.	Quantitativo de imagens de cada classe; divisão de imagens em 4 classes	64
Tabela 6.	Imagens desconsideradas através da identificação de <i>outliers</i>	68
Tabela 7.	Quantidade de imagens consideradas nas classes controle e tumor, com adição da característica Localização.	70
Tabela 8.	Quantidade de imagens consideradas nas classes baixo grau e alto grau, com viés de Localização.	71
Tabela 9.	Quantitativo de imagens utilizadas na primeira etapa de classificação.	72
Tabela 10.	Hiperparâmetros testados para otimização dos modelos.	73
Tabela 11.	Quantitativo de imagens utilizadas na segunda etapa de classificação.	75
Tabela 12.	Resumo dos principais achados dos principais atributos que caracterizaram classes controle e tumor	86
Tabela 13.	Resumo dos principais achados dos principais atributos que caracterizaram classes baixo grau e alto grau	87
Tabela 14.	Comparativo dos resultados finais da classificação controle/tumor, com o uso de sete e 15 atributos.....	101
Tabela 15.	Resultado da otimização dos hiperparâmetros na classificação entre controle e tumor	102
Tabela 16.	Comparativo dos resultados finais da classificação baixo grau/alto grau, utilizando sete e 15 atributos no treinamento.	107
Tabela 17.	Resultado da otimização dos hiperparâmetros na classificação entre controle e tumor	108

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACC	Acurácia
CMF	Carcinoma mamário felino
HE	Hematoxilina e Eosina
IA	Inteligência Artificial
MEC	Membrana extracelular
MDI	Média de Diminuição de Importância
MIC1	Medida da informação de correlação 1
MIC2	Medida da informação de correlação 2
ML	<i>Machine Learning</i>
MLP	<i>Multilayer Perceptron</i>
FN	Falso negativo
FP	Falso positivo
PSR	<i>Picrosirius Red</i>
RF	<i>Random Forest</i>
VN	Verdadeiro negativo
VP	Verdadeiro positivo
XGB	<i>XGBoost</i>

SUMÁRIO

Capítulo 1	INTRODUÇÃO	18
1.1	Objetivo geral	20
1.2	Objetivos específicos	20
1.3	Justificativa	21
1.4	Estrutura da dissertação	22
Capítulo 2	CARCINOMA MAMÁRIO FELINO	24
2.1	Fatores de risco e o câncer de mama	24
2.2	Tecido de sustentação e células neoplásicas	25
2.3	Histopatologia	26
2.4	<i>Picrosirius Red</i>	27
Capítulo 3	PROCESSAMENTO DE IMAGENS	29
3.1	Radiômica	29
3.1.1	Características de primeira ordem	29
3.1.2	Características de segunda ordem	30
3.1.3	Características de ordem superior	34
Capítulo 4	INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL	36
4.1	<i>Machine Learning</i>	36
4.1.1	Árvore de Decisão	36
4.1.2	<i>Random Forest</i>	38
4.1.3	<i>XGBoost</i>	40
4.2	Redes Neurais Artificiais	41
4.2.1	<i>Perceptron</i>	44
4.2.2	<i>Multilayer Perceptron</i>	46
4.3	Avaliação de desempenho de modelos de IA	47
Capítulo 5	TRABALHOS RELACIONADOS	49

5.1 Uso de PSR na avaliação de colágeno	49
5.2 Processamento de imagens aplicado à quantificação de colágeno em PRS	49
Capítulo 6 METODOLOGIA	53
6.1 Banco de imagens	53
6.2 Quantificação de fibras colágenas	55
6.3 Pré processamento das imagens	60
6.4 Extração atributos	62
6.5 Seleção inicial de atributos	63
6.5.1 Controle vs. baixo grau vs. alto grau	63
6.5.2 Controle centro vs. controle periferia vs. tumor centro vs. tumor periferia ...	64
6.6 Curvas gaussianas	64
6.7 Remoção de <i>outliers</i>	67
6.8 Seleção final de atributos	69
6.8.1 Controle vs. Tumor	69
6.8.2 Baixo grau vs. Alto grau	70
6.9. Classificação de imagens	71
Capítulo 7 SELEÇÃO FINAL DOS PRINCIPAIS ATRIBUTOS	76
7.1 Controle vs. Tumor	76
7.2 Baixo grau vs. Alto grau	82
Capítulo 8 FIBRAS COLÁGENAS TIPO I E TIPO III E SUAS CURVAS GAUSSIANAS.....	92
Capítulo 9 CLASSIFICAÇÃO DE TECIDO MAMÁRIO FELINO.....	96
9.1 Classificação entre controle e tumor	96
9.2 Classificação entre baixo grau e alto grau	102
Capítulo 10 CONCLUSÃO	109
REFERÊNCIAS.....	110

Capítulo 1 INTRODUÇÃO

As neoplasias mamárias têm se tornado mais incidentes em pequenos animais. São o terceiro tipo de tumor mais comum em gatas, atrás apenas dos tumores de pele e de medula óssea (AMORIM *et al.*, 2006; MISDORP, 2008; RUTTEMAN *et al.*, 2013; OVERLEY *et al.*, 2005). Esses tumores tendem a ser agressivos e encurtam significativamente a expectativa de vida (SCIBELLI *et al.*, 2003). Cerca de 80% dos casos progridem para metástase (LANA *et al.*, 2007). A agressividade em gatas é semelhante à dos carcinomas do tipo basal encontrados no câncer de mama (ZAPPULLI *et al.*, 2005; MARIA *et al.*, 2005). O estágio metastático oferece a menor chance de tratamento bem-sucedido (GUNASINGHE *et al.*, 2012).

No meio científico, o carcinoma mamário em gatas e cadelas é visto como um modelo comparativo para o estudo de diferentes tipos de câncer de mama (MUNSON & MORESCO, 2007). Isso se deve ao fato de que, além de compartilharem o mesmo ambiente, existem semelhanças entre fatores de risco e comportamento tumoral, que associados ao menor tempo de vida desses animais, permitem a obtenção de resultados mais precoces nas pesquisas científicas (MARIA *et al.*, 2005; MATOS *et al.*, 2012).

Fatores biológicos, como a estrutura do tecido mamário, também influenciam o desenvolvimento do câncer em ambas as espécies (ZAPPULLI *et al.*, 2005). Por exemplo, o aumento na densidade estromal, causado por uma deposição excessiva de colágeno, é reconhecido como um fator de risco para o câncer de mama (PROVENZANO *et al.*, 2006). Em estudo com gatas, já foi sugerido que o aumento da deposição de colágeno é mais pronunciado no carcinoma mamário felino (CMF) do que no tecido mamário saudável (JORGE *et al.*, 2020). De maneira geral, as fibras colágenas, principalmente dos tipos I e III, são componentes estruturais chave do tecido mamário e fazem parte da matriz extracelular (MEC), que passa por mudanças significativas durante o desenvolvimento do câncer (LIPTON *et al.*, 2018). O enrijecimento do tecido mamário está ligado à deposição de colágeno na MEC, aumentando as chances de CMF (PROVENZANO *et al.*, 2006).

O principal método de diagnóstico usado na medicina veterinária para classificar tumores é o exame histopatológico com coloração de Hematoxilina e Eosina (HE) (GOLDSCHMIDT *et al.*, 2011; MATOS *et al.*, 2012; MILLS *et al.*, 2015; MISDORP, 2008; SORENMO *et al.*, 2013). No carcinoma mamário, a graduação do laudo histopatológico é considerado um fator prognóstico (BETZ *et al.*, 2012). Os tumores são classificados com base na diferenciação tecidual, podendo ser de: Grau I, também chamado “bem diferenciado”, Grau II, considerado “moderadamente diferenciado” e Grau III, que seria “pouco diferenciado”, ligado a um pior prognóstico (ELSTON & ELLIS, 1991; GOLDSCHMIDT *et al.*, 2011). A expectativa prognóstica é que tumores de graus histológicos mais altos tenham maior agressividade tumoral e menores tempo de sobrevida (DE CAMPOS *et al.*, 2015).

Além do exame histopatológico com coloração HE, a técnica histoquímica *Picrosirius Red* (PSR) permite a visualização de fibras colágenas em diferentes tipos de tecidos (AUGSBURGER & HENZI, 2008; TEKUL *et al.*, 1996). Quando visualizado em microscopia sob luz polarizada, o método PSR mostra as fibras colágenas em cores diferentes: o colágeno tipo I aparece avermelhado, enquanto o tipo III mostra tons esverdeados (MONTES *et al.*, 1980). No entanto, estudos detalhados do tecido mamário felino usando este método ainda são limitados (JORGE *et al.*, 2020).

Embora a coloração por PSR permita a identificação diferencial das fibras colágenas, a interpretação da organização, espessura, orientação e heterogeneidade dessas fibras ainda depende, em grande parte, da avaliação visual do observador. Esse processo é subjetivo, estando sujeito à variabilidade entre observadores, além de limitações na percepção humana para discriminar padrões texturais complexos e sutis. Nesse contexto, a análise de textura baseada em radiômicas surge como uma abordagem adequada, pois possibilita a quantificação objetiva e reprodutível das propriedades espaciais do colágeno evidenciadas pelo PSR. Descritores matemáticos, como os de Haralick (HARALICK, 1973), permitem capturar padrões de homogeneidade, contraste e desordem estrutural que não são facilmente perceptíveis visualmente, fornecendo métricas quantitativas diretamente relacionadas à remodelação da matriz extracelular durante a carcinogênese. Assim, a aplicação de métodos computacionais não representa apenas uma alternativa tecnológica, mas uma solução metodológica para superar

as limitações da análise qualitativa tradicional, justificando sua integração com modelos de inteligência artificial no estudo do carcinoma mamário felino.

Amostras histológicas de tecido mamário felino saudável e neoplásico, coradas com PSR, foram fotografadas e categorizadas com base em sua localização (periférica e central) e agrupados segundo sua graduação histopatológica.

Ao usar o Processamento de Imagens Digitais, é possível extrair informações detalhadas das imagens, o que pode aprimorar métodos de diagnóstico (DA SILVA, 2019). Além da extração de características, o uso de ferramentas como a Inteligência Artificial (IA) e o Aprendizado de Máquina, ou *Machine Learning* (ML) tem sido crescente para a análise e classificação de padrões na área da saúde (MARQUES *et al.*, 2018; MARQUES *et al.*, 2017).

1.1 Objetivo geral

O objetivo deste trabalho é caracterizar imagens obtidas pela técnica histoquímica *Picrosirius Red* (PSR) em tecido mamário felino, saudável e tumoral, correlacionando as características extraídas com o processo de carcinogênese e o enrijecimento do parênquima mamário felino, através do uso de radiômicas selecionadas. Em seguida, será feita uma classificação em duas etapas. Inicialmente, as amostras serão classificadas como tecido saudável ou tecido tumoral e, subsequentemente, as imagens de tecido tumoral serão reclassificadas de acordo com o grau histológico, em dois grupos, baixo grau (graus I e II) e alto grau (grau III).

1.2 Objetivos específicos

1. Realizar a extração de atributos de textura das imagens consideradas e correlacionar a morfologia tecidual observada com os descritores de textura extraídos;
2. Avaliar a presença de *outliers* nos valores extraídos;

3. Determinar os atributos de destaque na caracterização das imagens;
4. Utilizar os atributos de destaque determinados para treinar modelos de inteligência artificial que classifique as imagens em tecido saudável ou alterado, conforme os rótulos de dados definidos através de exame HE;
5. Utilizar os atributos de destaque entre as imagens de tumor para treinar modelos que classifiquem as lesões como “baixo grau” ou “alto grau”, conforme rótulo de dados definido através de exame HE.

1.3 Justificativa

O CMF é considerado um bom modelo de estudo comparado ao câncer de mama, sendo importante o avanço dos conhecimentos em relação à espécie (MUNSON & MORESCO, 2007). No passado, foram estabelecidos modelos que relacionam alguns tipos de carcinoma animal ao câncer nos humanos, sendo que o CMF possui elevado potencial comparativo ao fenótipo triplo-negativo nas mulheres (CANNON, 2015). O comportamento agressivo é esperado em mais de 80% dos CMF, o que também é observado no câncer de mama subtipo basal, particularidade que reforça a escolha da espécie como modelo aos estudos relacionados ao câncer de mama (DE LAS MULAS *et al.*, 2000).

Há também semelhança entre os fatores biológicos que influenciam o câncer de mama ao CMF (MARIA *et al.*, 2005; MATOS *et al.*, 2012), como, por exemplo, a idade de incidência, os aspectos prognósticos, morfologia, o padrão de metástase, os fatores de risco e a resposta à terapia (HAHN; *et al.*, 1994). Todas essas características reforçam que o CMF é um bom modelo animal para estudos comparativos aos subtipos de câncer de mama mais agressivos (MARQUES *et al.*, 2018; MARQUES *et al.*, 2017; TAMAMOTO *et al.*, 2014; ZAPPULLI *et al.*, 2005).

Dessa maneira, considera-se fundamental a implementação de novas ferramentas que complementem e aprimorem o diagnóstico do CMF, na expectativa de reduzir tempo de

emissão de resultados, a margem de erros a um custo acessível, buscando melhores condições de diagnóstico e tratamento para ambas as espécies.

A hipótese deste trabalho é que seja possível correlacionar características extraídas de imagens que evidenciam fibras colágenas de tecidos mamários felinos com o diagnóstico do CMF, bem como com sua graduação histopatológica, considerando que as alterações na organização das fibras de colágeno no processo de carcinogênese se refletem em assinaturas de textura distintas.

1.4 Estrutura da dissertação

Além do capítulo introdutório, que apresentou a motivação, a justificativa e os objetivos gerais e específicos do estudo, a dissertação está organizado da seguinte forma:

Capítulo 2: apresenta os principais conceitos relacionados ao CMF, incluindo fatores de risco, origem e evolução da doença, aspectos prognósticos, bem como as principais abordagens diagnósticas e exames complementares utilizados na prática clínica.

Capítulo 3: aborda os fundamentos do processamento digital de imagens utilizados neste trabalho, com atenção especial às técnicas de extração de características, estatísticas e texturais, que subsidiaram a análise dos padrões presentes nas imagens histológicas.

Capítulo 4: apresenta os conceitos essenciais de Inteligência Artificial (IA) e *Machine Learning* (ML), necessários para compreender a aplicação dos modelos adotados, incluindo uma breve discussão sobre alguns algoritmos e suas diferenças, além de métricas de avaliação.

Capítulo 5: compartilha trabalhos relacionados a este estudo. De maneira geral, estudos que consideraram a avaliação de colágeno nos animais, com o auxílio do método PSR, em busca de comparar prognósticos ou evoluções, e ainda, a aplicação de processamento de imagens digitais na avaliação de tecidos corados com este método.

Capítulo 6: descreve detalhadamente a metodologia empregada, contemplando a composição do banco de imagens e os critérios de seleção das amostras, o critério utilizado na quantificação

de colágeno das imagens, o processo de definição dos atributos inicialmente investigados e os procedimentos adotados no desenvolvimento dos modelos de classificação utilizados.

Capítulo 7: apresenta o resultado da seleção dos atributos mais relevantes para cada classificação, seguido das discussões sobre a relação entre esses atributos e as propriedades morfológicas e texturais observadas nas imagens analisadas.

Capítulo 8: demonstra a hipótese entre o resultado da quantificação das fibras colágenas e sua contribuição na caracterização de imagens de tecidos mamários felinos.

Capítulo 9: expõe os resultados obtidos pelos modelos de classificação, a partir dos atributos de destaque, selecionados no processo de caracterização, incluindo o desempenho comparativo entre os algoritmos e análise e interpretação das métricas alcançadas.

Capítulo 10: reúne as conclusões finais do trabalho e apresenta sugestões para desdobramentos e investigações futuras, considerando tanto melhorias metodológicas quanto potenciais aplicações práticas dos resultados.

Capítulo 2 CARCINOMA MAMÁRIO FELINO (CMF)

Este capítulo aprofunda a compreensão sobre o carcinoma mamário felino (CMF), abordando sua realidade biológica, os principais fatores de risco associados e a justificativa para sua utilização como modelo comparativo no estudo do câncer de mama. São apresentados os mecanismos conhecidos no desenvolvimento da neoplasia, as razões que contribuem para seu comportamento agressivo e as principais técnicas diagnósticas utilizadas para sua identificação e caracterização.

2.1 Fatores de risco e o câncer de mama

Entre 80% e 96% dos tumores mamários em gatas são considerados malignos e agressivos, sendo classificados como CMF (HUGHES & DOBSON, 2012). Este comportamento agressivo é marcado pela invasão dos tecidos adjacentes (SORENMO *et al.*, 2013), assim como dos linfonodos regionais, evoluindo para metástase nos pulmões (MORRIS *et al.*, 2008; SOARES *et al.*, 2016). O tempo médio de sobrevivência para estas gatas é inferior a um ano (SEIXAS *et al.*, 2011).

A fase metastática do câncer de mama possui a menor chance de cura e tem sido amplamente estudada em mulheres (GUNASINGHE *et al.*, 2012). O carcinoma mamário espontâneo, tanto em gatas quanto em cadelas, é considerado um modelo valioso para a compreensão dos diferentes tipos de câncer de mama. No entanto, a compreensão dessas condições em gatas e cadelas precisa ser aprimorada (MUNSON & MORESCO, 2007).

Fatores biológicos que influenciam o câncer em mulheres apresentam semelhanças com aqueles que afetam o CMF (MARIA *et al.*, 2005; MATOS *et al.*, 2012). Estes fatores incluem a carcinogênese, fatores de risco, idade de ocorrência, prognóstico, avaliação histopatológica, padrões de metástase e resposta à terapia (HAHN *et al.*, 1994). Essas características demonstram que os felinos constituem um modelo de estudo eficaz, especialmente quando

comparados a cânceres de mama mais agressivos classificados como os do tipo basal (C.S. *et al.*, 2018; MARQUES *et al.*, 2017; TAMAMOTO *et al.*, 2014; ZAPPULLI *et al.*, 2005).

Fatores de risco estabelecidos para o desenvolvimento do câncer de mama incluem idade avançada, etnia, histórico de menarca, estrutura da mama, padrões reprodutivos, uso de hormônios, consumo de álcool, uso de tabaco e baixos níveis de atividade física (WINTERS *et al.*, 2017). Em relação à estrutura da mama, a diminuição na densidade do parênquima mamário ao longo do tempo está ligada a um menor risco de câncer de mama, diferentemente daquelas com densidade consistente (LOKATE *et al.*, 2013). Além disso, embora métodos avançados de detecção precoce, como exames de imagem e biópsias guiadas, sejam amplamente utilizados na medicina humana, esses procedimentos não fazem parte da rotina clínica para gatas, seja por limitações técnicas, custo, baixa disponibilidade, fatores que dificultam a implementação na medicina veterinária de programas estruturados de rastreamento (GOGUA, 2025). Consequentemente, o diagnóstico do CMF costuma ocorrer em estágios mais avançados e manifestar comportamento mais agressivo. No entanto, medidas preventivas demonstram impacto significativo na redução do risco. Entre elas, a castração antes do primeiro cio pode diminuir drasticamente a probabilidade de desenvolvimento do CMF, efeito associado à redução da exposição prolongada aos hormônios sexuais, que desempenham papel central na carcinogênese mamária (OVERLEY *et al.*, 2005; GOGUA, 2025).

2.2 Tecido de sustentação e células neoplásicas

As fibras colágenas possuem diversas funções e estão presentes em diferentes tecidos. A matriz intersticial, rica em fibras colágenas tipo I e III, forma o estroma, o qual é remodelado durante o desenvolvimento do câncer (LIPTON *et al.*, 2018). A progressão do câncer está ligada ao enrijecimento do tecido mamário devido ao acúmulo de colágeno na Matriz Extracelular (MEC) (PROVENZANO *et al.*, 2006). O estroma neoplásico compartilha similaridades com o tecido saudável, resultando em uma aparência heterogênea em toda a sua extensão auxiliando o crescimento do tumor (DVORAK, 1986).

No câncer de mama, um maior acúmulo de colágeno está relacionado a uma maior chance de invasão e metástase (GILKES *et al.*, 2013b; XIONG *et al.*, 2014). A interação entre o estroma mamário e o epitélio, influenciada por sinais moleculares, é crucial para a invasão tecidual e a disseminação do câncer. Os fibroblastos atuam então para alterar a estrutura do estroma, produzindo colágenos tipo I e III (DE WEVER & MAREEL, 2003). Ocorre o aumento na deposição de colágeno em todo o estroma, à medida que um tumor cresce (LIN *et al.*, 2003).

Estudos que compararam tecidos mamários normais e tumorais demonstraram alterações nas fibras colágenas, seja devido a danos/perda da membrana basal (BENAZZI *et al.*, 1993), ou devido ao aumento de colágeno na MEC (PROVENZANO *et al.*, 2006), relacionam essas mudanças ao potencial invasivo e à agressividade tumoral.

2.3 Histopatologia: coloração HE

O procedimento padrão para o exame histopatológico no laboratório tipicamente utiliza a coloração de Hematoxilina e Eosina (HE). Este método permite a classificação morfológica e a graduação das neoplasias, um dos pilares diagnósticos na medicina veterinária (GOLDSCHMIDT *et al.*, 2011; MATOS *et al.*, 2012; MILLS *et al.*, 2015; MISDORP, 2008; MISDORP *et al.*, 1999; SORENMO *et al.*, 2013).

As características morfológicas permitem aos pesquisadores classificar os tumores em diferentes tipos e subtipos. Para o CMF, no laudo histopatológico, a graduação (I, II ou III) representa critério prognóstico (BETZ *et al.*, 2012). O sistema de graduação para CMF foi adaptado a partir da classificação utilizada para tumores de mama (ELSTON & ELLIS, 1991), sendo a classificação adotada pela comunidade científica (SEIXAS *et al.*, 2011; CASSALI, 2018). À medida que o grau do tumor aumenta, há frequentemente uma correlação com maior agressividade e um menor tempo de sobrevida (DE CAMPOS *et al.*, 2015).

Considerando a atividade biológica no CMF, sua intensidade é maior nas bordas do tumor em comparação ao centro. Isso se deve ao suprimento sanguíneo abundante na periferia, garantindo o aporte de nutrientes contribuindo com a progressão tumoral, enquanto a região

central tende a permanecer em hipóxia (KUHL, 2000). Portanto, examinar ambas as regiões do tumor, é importante para avaliar a dinâmica estromal em tecidos saudáveis e neoplásicos (QUAIL & JOYCE, 2013).

2.4 *Picrosirius Red* (PSR)

O *Picrosirius Red* (PSR) é uma técnica histoquímica usada para destacar e padronizar as fibras colágenas em variados tecidos e espécies (AUGSBURGER & HENZI, 2008; TEKUL *et al.*, 1996). Nos tecidos de mamíferos, o colágeno atrai fortemente os corantes ácidos. O método PSR auxilia na identificação das estruturas das fibras colágenas através de birrefringência em campo escuro (MONTES & JUNQUEIRA, 1991). Esta técnica de coloração específica permite a visualização de fibras colágenas (SWEAT *et al.*, 1964; MONTES, 1996). O colágeno apresenta elevada birrefringência, o que possibilita sua distinção em relação a outros constituintes do tecido, como o músculo estriado, que exibe estriações fracamente birrefringentes; o músculo liso, caracterizado por birrefringência fraca; e as fibras elásticas, que podem apresentar birrefringência reduzida ou estar ausentes dessa propriedade. Dessa forma, o colágeno reflete a luz de maneira mais intensa quando comparado a outros tecidos (WOLMAN, 1975).

Destacam-se dois tipos de colágeno, dentre o que pode ser visualizado em relação à birrefringência. O colágeno tipo I possui fibras mais espessas, que produzem alta birrefringência e um tom avermelhado. Em contraste, o colágeno tipo III é mais delgado e apresenta birrefringência em tons esverdeados (MONTES *et al.*, 1980). A espessura do corte do tecido histológico é importante para a correta interpretação dos resultados e é padronizada em cinco micrômetros para garantir a birrefringência adequada (JUNQUEIRA *et al.*, 1982). A técnica PSR já demonstrou ser eficaz no diagnóstico de lesões mamárias tanto em mulheres (DRIFKA *et al.*, 2016) quanto em animais (WEGNER *et al.*, 2017). Estudos prévios demonstraram alterações na densidade estromal do parênquima mamário de gatas utilizando a análise digital de imagem, ao examinar atributos relacionados às propriedades de luminescência

(curtose) e propriedades de textura (entropia), contudo, ainda há pouca pesquisa acadêmica sobre o tema (JORGE *et al.*, 2020).

Capítulo 3 PROCESSAMENTO DE IMAGENS

Este capítulo apresenta o conceito de radiômica, destacando seus fundamentos e a relevância dessa abordagem no contexto da análise de imagens digitais. A compreensão desse conceito, bem como dos principais métodos que o compõem, é essencial para subsidiar a etapa de extração de características das imagens por meio de técnicas computacionais, que será empregada nos capítulos subsequentes.

3.1 Radiômica

As características de radiômica são dados que podem ser extraídos de imagens médicas com o uso de fórmulas matemáticas, através de algoritmos digitais. Tais características transformam imagens, através de suas estruturas originais, em informações de interesse. De forma geral, pode-se obter dados detalhados sobre a forma, a intensidade e a textura de imagens digitais. (ARDAKANI *et al.*, 2022). Texturas podem ser compreendidas como um conjunto de padrões específicos que se manifestam na natureza, os quais podem ou não apresentar repetição. (HARALICK *et al.*, 1973).

Considerando as características de textura, pode-se categorizá-las em três grandes grupos, sendo elas de: primeira ordem, segunda ordem e ordem superior *wavelet* (ARDAKANI *et al.*, 2022). Na sequência, tratar-se-á individualmente cada grupo.

3.1.1 Características de primeira ordem

Também conhecidas como características de histograma, as características de primeira ordem fornecem informações básicas com base na distribuição de valores de pixels individuais dentro das lesões, sem considerar os seus arranjos espaciais. Derivam do histograma de níveis de cinza e fornecem detalhes sobre a distribuição e a frequência de pixels (CASTELLANO *et*

al., 2004). Entretanto, elas não consideram relações de pixels com seus vizinhos. Dentre elas, pode-se citar: (a) média; (b) desvio padrão; c) variância; (d) assimetria (*skewness*); (e) curtose (*kurtosis*); (f) energia e (h) entropia.

A assimetria, ou *skewness*, é determinada pelo grau de desvio ou afastamento da simetria de uma distribuição. Uma curva simétrica possui valores de média, moda e mediana coincidentes, o que significa equilíbrio perfeito em uma determinada distribuição. Quando uma distribuição é assimétrica, ou seja, com valores de média, moda e mediana diferentes entre si, haverá um viés para a direita ou esquerda. Quando há enviesamento para a esquerda, o valor de *skewness* é positivo, e quando há enviesamento para a direita, o valor de *skewness* é negativo (RODRIGUES, 2009). Considerando o histograma de uma imagem digital, essa característica mostra o grau de assimetria na distribuição dos valores de intensidade de pixel. Uma imagem com distribuição simétrica de intensidades em torno da média, terá um valor de *skewness* próximo a média e apresenta mais homogeneidade (ARDAKANI *et al.*, 2022).

A curtose, ou *kurtosis*, é o grau de achatamento de uma distribuição, em relação à distribuição normal. Ela mede o quanto os dados estão concentrados ao redor da média e o peso das caudas. (RODRIGUES, 2009). Espera-se que uma imagem que possua menor curtose, especialmente negativa, apresente melhor resolução de contraste (ARDAKANI *et al.*, 2022).

3.1.2 Características de segunda ordem

As características de segunda ordem, ou características da matriz de coocorrência de níveis de cinza (*gray-level co-occurrence matrix* - GLCM), transmitem informação textural adicional ao examinar as relações entre as intensidades de pares de pixels vizinhos. Oferecem padrões e texturas complexos, focando nas interações entre múltiplos pixels e podem obter mais informações do que o histograma de uma imagem.

A GLCM foi proposta por Haralick (1973) e busca ocorrências de pares de pixels a uma distância específica, d , e direção de varredura, θ . Trata-se de uma matriz quadrada com

dimensões iguais ao número de intensidades dentro de uma imagem. Para uma imagem uniforme, ou seja, sem variações de níveis de cinza, a matriz é diagonal e as células fora da diagonal são iguais a zero. Além disso, os valores das células fora da diagonal tornam-se diferentes de zero se as variações de níveis de cinza aumentarem. Geralmente, a GLCM é calculada para cinco distâncias (de 1 a 5) e quatro direções (0°, 45°, 90° e 135°). Através da GLCM, é possível determinar 14 características da imagem, denominadas descritores de Haralick. O valor final de cada atributo corresponde à média dos resultados obtidos nas quatro direções, garantindo uma representação mais robusta e menos dependente da orientação das estruturas presentes na imagem. A Tabela 1 apresenta a lista dos descritores.

Tabela 1. Os 14 descritores de Haralick.

Descritor	Cálculo
Uniformidade (Energia)	$\sum_i \sum_j p(i, j)^2$
Contraste	$\sum_i \sum_j (i - j)^2 p(i, j)^2$
Correlação	$\frac{\sum_i \sum_j (ij) p(i, j) - \mu_x \mu_y}{\sigma_x \sigma_y}$
Soma dos quadrados: variância	$\sum_i \sum_j (i - \mu)^2 p(i, j)$
Momento da diferença inversa	$\frac{\sum_i \sum_j p(i, j)}{(i - j)}$
Média da soma	$\sum_{i=2}^{2N_g} i p_{(x+y)} i$

Variância da soma	$\sum_{i=2}^{2N_g} (i - ES)^2 p_{x+y} i$
Entropia da soma (ES)	$-\sum_i p_{(x+y)}(i) \log\{p_{(x+y)}(i)\}$
Entropia	$-\sum_i \sum_j p(i, j) \log p(i, j)$
Variância da diferença	<i>Variância de p_{x-y}</i>
Entropia da diferença	$-\sum_{i=0}^{N_g-1} p_{x-y}(i) \log\{p_{x-y}(i)\}$
Medida da informação de correlação (MIC1)	$\frac{HXY - HXY1}{\max\{HX, HY\}}$
Medida da informação de correlação (MIC2)	$1 - \exp[-2,0(HXY2 - XHY)]^{1/2}$
	<i>em que</i>
	$HXY = -\sum_i \sum_j p(i, j) \log p(i, j)$
Máximo coeficiente de correlação	$\sum_i \sum_j \frac{p(i, j)^2}{p(i, *) p(*, j)}$

Fonte: HARALICK, 1973.

Considerando individualmente cada descritor, apresentam-se as principais características de cada um, conforme ARDAKANI *et al.* (2022):

A *uniformidade* indica o grau de uniformidade da textura. Texturas suaves, com baixa variação na intensidade dos tons de cinza, apresentam valores mais altos desse descritor,

enquanto texturas rugosas, heterogêneas ou granuladas tendem a apresentar valores mais baixos.

O *contraste* estima a variação de intensidade entre pares de pixels na imagem. Texturas com grande variação local apresentam alto contraste, enquanto texturas suaves resultam em valores menores. Esse descritor apresenta relação inversa com o *momento inverso da diferença*.

A *correlação* avalia a força das dependências lineares entre os tons de cinza de pares de pixels. Em imagens com maior ordenação e estrutura local, espera-se que o valor da correlação seja mais elevado. Em imagens mais desorganizadas ou aleatórias, esse valor tende a diminuir.

A *soma dos quadrados: variância* indica a variação de intensidade presente no fundo ou na região analisada da imagem. Imagens com maior dispersão nos valores dos pixels tendem a possuir valores mais altos desse descritor. Esse parâmetro expressa a variação global do brilho, independentemente da relação entre pixels vizinhos.

O *momento da diferença inversa*, também chamado de homogeneidade, mede a similaridade local entre pixels. Valores altos indicam texturas homogêneas, com pequenas mudanças na intensidade dos tons de cinza. Assim como a *uniformidade*, esse descritor é inversamente proporcional ao contraste.

A *média da soma* expressa a média dos níveis de cinza resultantes das somas entre pares de pixels. Texturas com níveis de cinza mais altos tendem a valores maiores, mas pode depender da distribuição conjunta de pares.

A *variância da soma* quantifica a dispersão das somas dos tons de cinza entre pares de pixels. Texturas com maior diversidade de intensidades apresentam valores mais altos, enquanto texturas muito homogêneas tendem a valores menores.

A *entropia da soma* mede a quantidade de informação contida nas somas das intensidades entre pares de pixels. Texturas mais complexas e heterogêneas exibem maior entropia, enquanto texturas uniformes tendem a valores reduzidos.

A *entropia* avalia o grau de aleatoriedade das intensidades da imagem. Valores mais altos representam maior desorganização e variabilidade tonal.

A *variância da diferença* avalia a dispersão das diferenças de intensidade entre pares de pixels. Em imagens muito regulares — como um tabuleiro de xadrez, onde as diferenças são constantes — a variância da diferença tende a zero. Imagens com maior diversidade tonal apresentam valores mais altos.

A *entropia da diferença* mede o grau de desordem nas diferenças de intensidade entre pixels vizinhos. Valores maiores indicam maior variabilidade entre os tons de cinza da textura analisada.

A *medida de informação de correlação 1* (MIC1) estima a dependência entre pixels comparando a entropia conjunta com a entropia assumida para elementos independentes. Valores próximos a zero indicam pouca dependência, enquanto valores mais altos indicam maior estruturação.

A *medida de informação de correlação 2* (MIC2) é semelhante à MIC1, mas utiliza uma abordagem exponencial na comparação das entropias, realçando ainda mais padrões de dependência entre pixels.

O *máximo coeficiente de correlação* indica heterogeneidade relacionada à distribuição dos níveis de cinza.

3.1.3 Características de ordem superior

As características de ordem superior vão além das características de primeira e segunda ordem, complementando a análise, através de padrões complexos e detalhes texturais, pela exploração de conexões entre múltiplos pixels. Como exemplos, pode-se citar a matriz de comprimento de percurso de nível de cinza e a matriz de dependência de nível de cinza vizinho. As características baseadas em transformada também são consideradas de ordem superior avaliam texturas e distribuições de nível de cinza em lesões após as imagens terem passado por transformação ou filtragem. Técnicas de transformada comuns frequentemente empregadas na análise de imagens são a matriz de gradiente absoluta, histogramas de gradientes orientados,

padrões binários locais, a transformada de Gabor e a transformada *wavelet* (ARDAKANI *et al.*, 2022).

Após a extração de atributo, é preciso selecionar quais os atributos possuem maior relevância. Esse processo é importante para diminuir custo computacional e possivelmente eliminar atributos de alta confusão entre as classes, o que provavelmente, melhora a classificação geral.

Capítulo 4 INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL

Este capítulo apresenta os conceitos de Inteligência Artificial (IA), que serão aplicadas ao longo do estudo. São introduzidos os princípios gerais de algoritmos, com destaque para suas características, vantagens e limitações, e os principais aspectos envolvidos em suas implementações. Esses conceitos servirão como base teórica para o entendimento das metodologias empregadas nos capítulos subsequentes, como também para apoiar a interpretação dos resultados deste estudo.

A inteligência artificial é compreendida como um campo interdisciplinar da computação que se dedica a criação sistemas capazes de executar tarefas que, tradicionalmente, exigiriam inteligência humana, o que inclui perceber o ambiente, aprender com dados, raciocinar, tomar decisões, reconhecer padrões, comunicar-se e resolver problemas. Ela se subdivide em subáreas, como Aprendizado de Máquina, Aprendizado Profundo, Visão Computacional, dentre outras (RUSSELL & NORVIG, 2001).

4.1 Aprendizado de Máquina (*Machine Learning*)

O Aprendizado de Máquina, ou *Machine Learning* (ML), abrange técnicas que permitem que computadores aprendam a realizar tarefas analisando bases de dados, previamente rotuladas, e posteriormente, aprimorando seu aprendizado à medida que novos dados são inseridos (MONARD & BARANAUSKAS, 2003). Ele é uma área da Inteligência Artificial que utiliza técnicas matemáticas e estatísticas, em que métodos são diferencialmente aplicados conforme alguma situação (MUELLER & MASSARON, 2019).

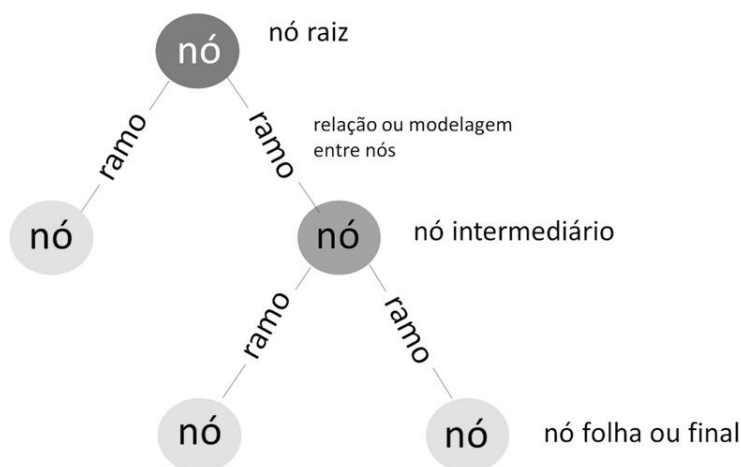
4.1.1 Árvore de Decisão

A árvore de decisão é um modelo de aprendizado de máquina representado por uma estrutura hierárquica composta por nós e ramos, cujo formato lembra uma árvore invertida

(HAN & KAMBER, 2001; MONARD & BARANAUSKAS, 2002a; WITTEN & FRANK, 2005). O nó raiz, localizado no topo, é o primeiro ponto de decisão da árvore. Os nós intermediários realizam testes sobre variáveis independentes, definindo partições nos dados, em busca de segregar diferenças. Cada resultado possível do teste conduz a um ramo distinto. Já os nós folha, posicionados nas extremidades da estrutura, representam a saída do modelo: um valor de predição para a variável dependente ou uma distribuição de probabilidades associada às classes possíveis. A Figura 1 apresenta um exemplo genérico de árvore de decisão.

Seu objetivo principal pode ser tanto construir um modelo preditivo, que busca classificar categorias, quanto revelar a estrutura explicativa subjacente ao fenômeno analisado, identificando quais atributos, também chamados de *features*, e interações que apresentam maior relevância para tomadas de decisão (BREIMAN *et al.*, 1984).

Figura 1. Modelo genérico de árvore de decisão.



Fonte: adaptado de BREIMAN *et al.*, 1984.

Como vantagens, são consideradas intuitivas, de fácil interpretação, não exigem normalização dos dados e podem ser aplicadas a problemas não lineares. No entanto, também possuem limitações, como a tendência ao sobreajuste, ou *overfitting*, especialmente quando muito profundas, e a alta sensibilidade a pequenas variações nos dados de treinamento. Por isso,

técnicas como poda, ou *pruning*, e validação cruzada são recomendadas para melhorar a capacidade de compreensão das classes, chamada de generalização, do modelo (HAN *et al.*, 2012).

Modelos mais avançados, como métodos *ensemble*, que mesclam um conjunto de métodos simples de ML, por exemplo *Random Forest* e *Gradient Boosting*, buscam mitigar essas limitações, combinando múltiplas árvores para aumentar a robustez, reduzir o viés e melhorar o desempenho preditivo (HAN & KAMBER, 2001).

4.1.2 *Random Forest* (RF)

As florestas aleatórias (*Random Forests*, ou RFs) são modelos de aprendizado de máquina baseados em um conjunto de árvores de decisão, nas quais cada árvore é construída a partir de um vetor aleatório de variáveis, amostrado de forma independente e com a mesma distribuição para todas as árvores da floresta. Em problemas de classificação, cada árvore vota para uma classe, e a predição final é obtida pela classe que receber o maior número de votos, caracterizando um processo de decisão por maioria (RIQUETI *et al.*, 2018).

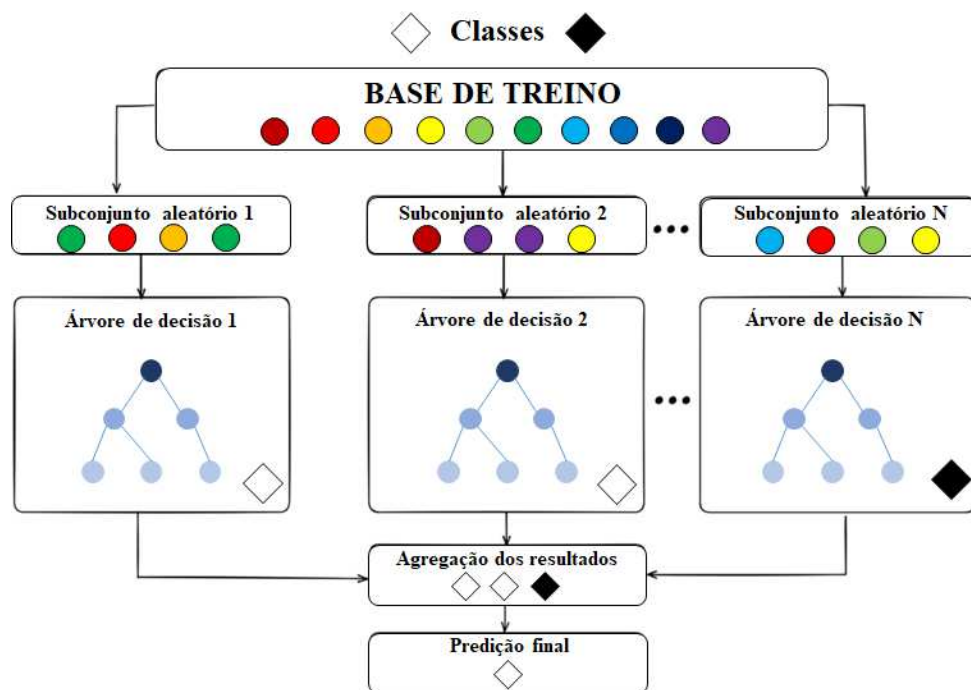
Random Forest pode ser entendido como uma extensão do método *bagging* (*bootstrap aggregation*) proposto por BREIMAN (2011), no qual múltiplos modelos são treinados a partir de subconjuntos *bootstrap* da base de dados, isto é, coletados sob subamostragem com reposição (BREIMAN, 2011). Cada árvore, portanto, é treinada com um conjunto de instâncias selecionadas aleatoriamente com reposição. Adicionalmente, a cada divisão dentro das árvores, apenas um subconjunto aleatório dos atributos é considerado para o cálculo da função de divisão, promovendo diversidade estrutural entre as árvores e reduzindo a correlação entre elas.

Dois parâmetros são fundamentais no processo de construção de uma *Random Forest*: (i) o número total de árvores que compõem a floresta e (ii) a quantidade de atributos avaliados em cada nó interno. A escolha adequada desses parâmetros influencia diretamente o desempenho do modelo e sua capacidade de generalização (RIQUETI *et al.*, 2018).

Um aspecto importante das RFs é que o erro de generalização tende a convergir para um limite quando o número de árvores cresce, evitando que o modelo continue a se ajustar excessivamente aos dados de treino. Isso difere positivamente das árvores de decisão individuais, que são altamente suscetíveis ao sobreajuste. Assim, ao combinar múltiplas árvores independentes, uma *Random Forest* produz previsões mais robustas e estáveis.

Em termos práticos, as RFs se destacam pela boa acurácia preditiva, facilidade de uso, baixa sensibilidade a hiperparâmetros e capacidade de lidar com bases de dados complexas, ruidosas ou com grande número de atributos. Por esses motivos, o algoritmo frequentemente apresenta desempenho comparável ou superior ao de outros métodos clássicos de aprendizado supervisionado em diversas aplicações (LIAW & WIENER, 2001). A Figura 2 apresenta um exemplo de modelo RF e a amostragem aleatória com reposição.

Figura 2. Modelo demonstrativo do funcionamento de uma *Random Forest*.



Fonte: adaptado de BREIMAN, 2011.

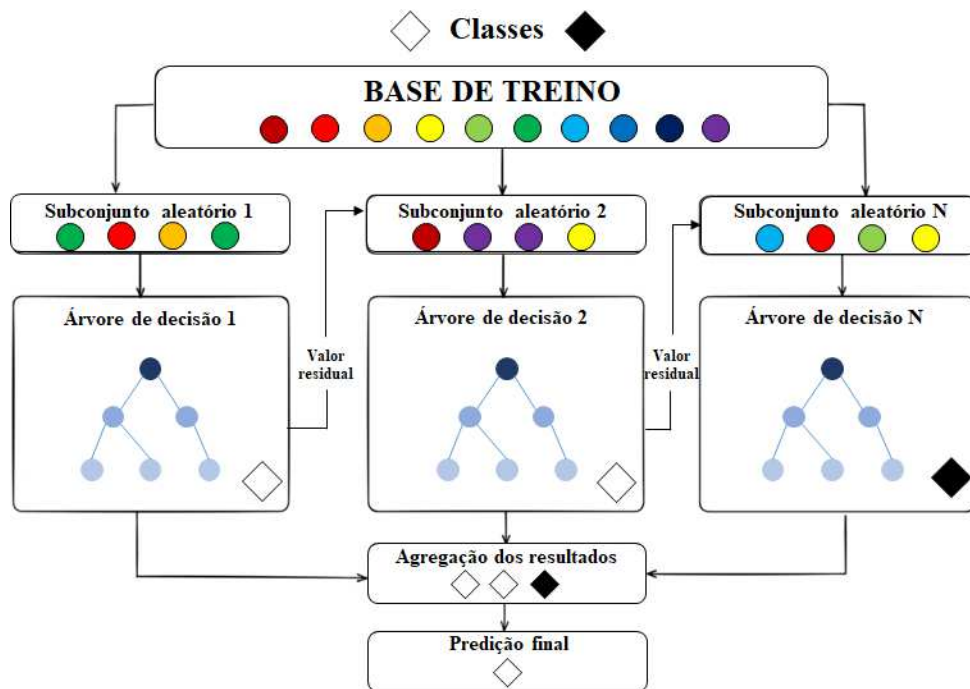
4.1.3 *XGBoost*

O *XGBoost*, acrônimo para *eXtreme Gradient Boosting* (ou ainda, XGB), também é um algoritmo baseado em árvores de decisão, porém com uso de *gradient boosting*. Ele se diferencia do algoritmo *Random Forest*, por utilizar árvores sequencialmente, corrigindo os erros dos anteriores para refinar as previsões realizadas (CHEN & GUESTRIN, 2016).

A técnica de *gradient boosting* é inspirada em métodos de otimização numérica (NOCEDAL & WRIGHT, 2006). O termo *gradient* advém do uso de métodos matemáticos que utilizam gradiente, cálculo este que aplica derivada de primeira ordem para buscar uma solução ótima: o ponto de mínimo de uma função de perda. *Boosting* está associada a incrementos sucessivos na forma em que as árvores são geradas, em que cada nova árvore é treinada para corrigir os erros, ou resíduos, do conjunto de árvores anterior. Há então uma sequência aditiva de árvores que, quando combinadas, compõem a predição final (CHEN & GUESTRIN, 2016)..

Além disso, este algoritmo utiliza otimização baseada em expansão de Taylor de segunda ordem, que fornece uma estimativa mais precisa do passo de otimização, para obter uma convergência mais rápida e um melhor desempenho preditivo. Ele trabalha ainda com a regularização explícita, que considera os termos *Lasso* (L1) e *Ridge* (L2), em sua função de custo para penalizar a complexidade do modelo e suavizar os pesos das folhas das árvores, reduzindo o sobreajuste (CHEN & GUESTRIN, 2016). A Figura 3 apresenta um exemplo do algoritmo *XGBoost*.

Figura 3. Modelo demonstrativo do funcionamento de um *XGBoost*.



Fonte: adaptado de CHEN & GUESTRIN, 2016.

4.2 Rede Neural Artificial (RNA)

Uma subárea do aprendizado de máquina é o aprendizado profundo. Ele trabalha com grandes conjuntos de dados para aprender a realizar tarefas, através de uma técnica que simula o funcionamento do cérebro humano: as chamadas redes neurais. Redes neurais artificiais são compostas por estruturas lógicas chamadas de neurônios, similar a nomenclatura da principal célula do sistema nervoso, justamente por ter como objetivo simular o funcionamento de um neurônio biológico, que se liga e se comunica aos seus irmãos vizinhos através de sinapses químicas. Nos neurônios biológicos, os dendritos recebem as informações, o corpo celular integra e processa esses sinais, e o axônio transmite a informação resultante por meio de impulsos nervosos. Essa transmissão possibilita a conexão entre neurônios pela sinapse, conceito que inspira o modelo computacional das RNAs (BEALE & JACKSON, 1990). Na

lógica de programação, diferentes valores, também chamados de pesos, simulam as sinapses cerebrais (MUELLER & MASSARON, 2019), através de elementos computacionais altamente interconectados, que respondem a um estímulo de entrada e podem se adaptar dentro de um ambiente (BEALE & JACKSON, 1990).

Este tipo de rede tem se mostrado um processamento computacional bem efetivo para várias tarefas, tais como o reconhecimento de padrões, a classificação e compressão de dados, a modelagem e previsão, a resolução de problemas combinatórios, o controle adaptativo, a filtragem de ruídos, entre outros. RNAs possuem um vasto número de propriedades desejáveis, não encontradas em sistemas computacionais convencionais, como, que as tornam potencialmente vantajosas, em vários casos. Destaca-se entre as principais vantagens, o desempenho robusto quando lidam com ruído ou padrões de entrada incompletos e o alto grau de tolerância a falhas (KOVACS, 2002).

A maioria das arquiteturas de RNAs é composta por três camadas principais. A camada de entrada, responsável por receber e introduzir os padrões ou dados iniciais na rede. A camada oculta, também chamada de camada escondida, região onde a maior parte do processamento é realizada. E a camada de saída, onde o resultado final do processamento é determinado e apresentado ao usuário (HERTZ, 1991).

As RNAs dependem do processo de treinamento para compreenderem o modelo matemático que norteará a classificação que será feita. Esse treinamento pode ser de dois tipos: supervisionado e não supervisionado (BISHOP, 2006). No treinamento supervisionado, cada dado do conjunto de treinamento está associado a uma categoria ou rótulo previamente definido. Logo, os pesos da rede são ajustados de modo que as saídas produzidas se aproximem das saídas desejadas. Este é o principal método de treinamento de RNAs explorado neste trabalho. O objetivo do aprendizado supervisionado é aprender a relação entre as características dos dados e suas respectivas classes, construindo um modelo capaz de prever corretamente o rótulo de novos exemplos não vistos. Assim, o computador aprende um padrão associativo entre entradas e saídas, permitindo resolver problemas como classificação e regressão. Após o aprendizado, o modelo deve ser capaz de generalizar, classificando novos dados, diferentes dos utilizados no

treinamento, com base no conhecimento adquirido (HASTIE *et al.*, 2009; GOODFELLOW *et al.*, 2016).

Por outro lado, no aprendizado não supervisionado, os dados não possuem rótulos ou categorias prévias, e o objetivo é identificar estruturas ocultas, relações ou grupos naturais presentes no conjunto de dados. Assim, o algoritmo busca elementos semelhantes e os organiza em agrupamentos. Esse tipo de aprendizado é útil quando se deseja explorar dados, detectar padrões inesperados ou reduzir dimensionalidade sem depender de informações pré-classificadas, também chamada de clusterização (JAIN, 2010).

Outro método de destaque nos algoritmos de RNA é o *feedforward*. Nele, os sinais percorrem a rede em um único sentido, da camada de entrada para as camadas ocultas e, por fim, para a camada de saída. Cada neurônio recebe valores provenientes da camada anterior, aplica uma combinação linear dos pesos e do viés associado, e posteriormente transforma esse valor por meio de uma função de ativação. Dessa forma, o *feedforward* representa o mecanismo pelo qual a rede gera uma predição ou saída para um determinado conjunto de entradas. Esse processo não envolve ajustes de pesos; ele apenas utiliza os parâmetros previamente estabelecidos para produzir um resultado. É justamente essa etapa que possibilita que a rede, após treinada, seja capaz de realizar inferências em novos dados. A característica mais relevante das RNAs é sua capacidade de aprender, aprimorando seu desempenho ao longo do tempo. Esse aprendizado ocorre por meio de um processo iterativo de ajustes aplicados aos pesos, processo este que constitui o treinamento (HERTZ, 1991).

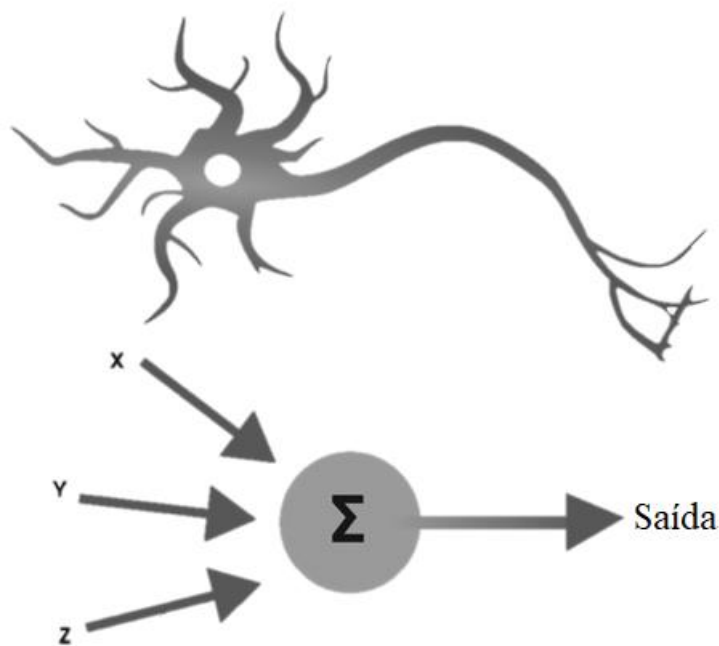
O algoritmo de *backpropagation*, ou retropropagação do erro, é um método utilizado no treinamento supervisionado de redes neurais multicamadas. Depois que a etapa de *feedforward* gera uma saída, o algoritmo de *backpropagation* calcula o erro entre o valor produzido e o valor desejado, propagando esse erro de volta pela rede. Durante essa retropropagação, são obtidos os gradientes parciais que indicam a contribuição de cada peso para o erro total. Esses gradientes são então utilizados para atualizar os pesos por meio de uma regra de otimização, o gradiente descendente. Assim, o algoritmo de *backpropagation* permite que a rede reduza

progressivamente o erro ao ajustar seus parâmetros internos, tornando-se capaz de aprender padrões complexos nos dados ao longo das iterações de treinamento (HERTZ, 1991).

4.2.1 *Perceptron*

Inventado em 1957 por *Frank Rosenblatt*, o *Perceptron* é considerado o modelo mais simples de rede neural artificial, atuando como um classificador linear. Ele é composto por um único neurônio com pesos sinápticos ajustáveis e um termo de *bias*, e é hábil em atuar apenas na segregação de duas classes, a chamada classificação binária. A Figura 4 apresenta o comparativo entre o modelo de *Rosenblatt* e o neurônio biológico, fonte de inspiração para o *Perceptron* e as RNAs.

Figura 4. Comparativo entre neurônio biológico e *Perceptron*.

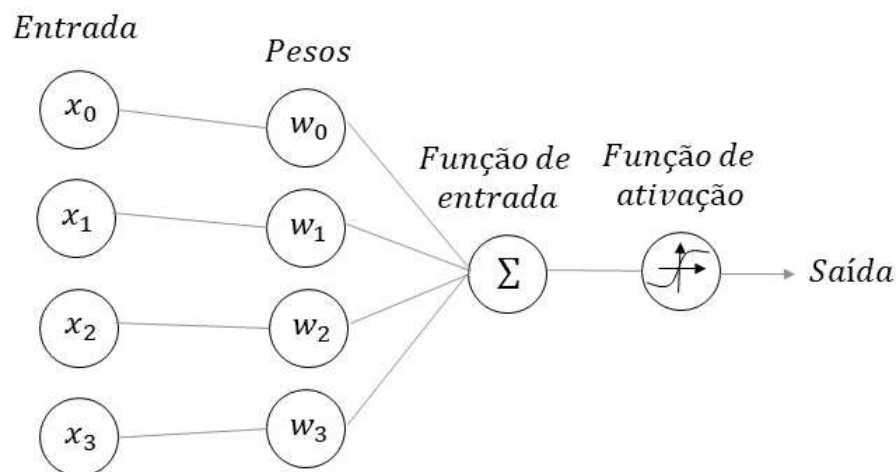


Fonte: adaptado de HAYKIN, 2001.

As entradas do *Perceptron* são associadas a pesos, que, quando ajustados, permitem ao sistema aprender um determinado comportamento. Para que ele produza as saídas desejadas, é necessário ajustar adequadamente seus pesos durante o processo de treinamento, de maneira a condicioná-lo a compreender a separação entre os dados que define uma classe ou outra (ROSENBLATT, 1957).

Em relação ao treinamento do algoritmo do *Perceptron*, o usuário deve fornecer os valores de entrada e as saídas esperadas. Os pesos recebem valores iniciais, geralmente próximos de zero e, em seguida, as entradas definidas são multiplicadas pelos respectivos pesos. Na sequência, elas são somadas, e o resultado é comparado a um valor de limiar para determinar a saída do neurônio. Caso essa soma ultrapasse um determinado limite, o *Perceptron* produz a saída igual a 1. Caso contrário, o resultado é -1 . Tal atribuição é conhecida como Função Degrau. A Figura 5 apresenta um modelo de funcionamento de um algoritmo *Perceptron*.

Figura 5. Funcionamento do algoritmo *Perceptron*.



Fonte: adaptado de HAYKIN, 2001.

4.2.2 Multilayer Perceptron

O *Perceptron* Multicamadas (*Multilayer Perceptron* ou MLP) é um modelo de RNA utilizado em tarefas de classificação, regressão e modelagem de padrões complexos. Pertence à classe das redes *feedforward*, nas quais o fluxo de informações segue apenas no sentido das camadas de entrada para a saída, sem ciclos ou realimentações (HAYKIN, 2009; BISHOP, 2006).

É composto por três camadas: camada de entrada, camada oculta e camada de saída. A camada de entrada é responsável por receber os atributos do conjunto de dados. A camada oculta realiza transformações não lineares sobre esses atributos. Um modelo pode ser construído com uma ou mais camadas ocultas. A camada de saída produz a predição final do modelo, atuando diretamente na categorização do resultado final (RUMELHART *et al.*, 1986).

A principal característica que diferencia o MLP de modelos lineares é o uso de funções de ativação não lineares nas camadas ocultas, como *ReLU*, *sigmoid* ou *tanh*. Essas funções introduzem capacidade expressiva ao modelo, permitindo que ele represente relações complexas entre variáveis e aprenda padrões não lineares (GOODFELLOW *et al.*, 2016).

O processo de treinamento de um MLP ocorre por meio do algoritmo de retropropagação do erro, ou *backpropagation*, que ajusta os pesos das conexões com base no gradiente da função de perda (RUMELHART *et al.*, 1986).

Outra característica relevante é o uso de algoritmos de otimização para atualização dos pesos, acelerar a convergência e melhorar a estabilidade durante o treinamento, dentre os quais o gradiente descendente estocástico (SGD) e suas variações, como *Adam* ou *RMSProp*, são os mais empregados (GOODFELLOW *et al.*, 2016).

Além disso, o desempenho de um MLP depende de elementos como número de neurônios nas camadas ocultas, taxa de aprendizado, inicialização dos pesos, tamanho do lote (*batch size*) e regularização, incluindo *dropout* ou penalizações como L1/L2, que evitam

sobreajuste e aumentam a capacidade de generalização do modelo (BISHOP, 2006; HAYKIN, 2009).

Em relação à quantidade de neurônios nas camadas, HEATON (2017) sugere três abordagens iniciais na decisão das camadas intermediárias:

- (i) pode ser metade da soma da camada de entrada e a camada de saída;
- (ii) deve ser $2/3$ da soma do tamanho da camada de entrada e o tamanho da camada de saída;
- (iii) deve ser menor que o dobro do tamanho da camada de entrada.

Por fim, o MLP destaca-se por sua capacidade universal de aproximação, ou seja, a garantia teórica de que pode aproximar qualquer função contínua, desde que possua uma quantidade suficiente de neurônios em sua camada oculta (HORNIK, 1991).

4.3 Avaliação de desempenho de modelos de IA

Considerando que modelos de Inteligência Artificial (IA) possuem capacidade de aprendizado que, em certa medida, pode ser comparada aos mecanismos adaptativos do cérebro humano, torna-se fundamental medir o desempenho desses modelos para assegurar resultados precisos, confiáveis e, sobretudo, alinhados ao objetivo desejado (BISHOP, 2006).

Para avaliar o desempenho de um modelo, podem ser utilizadas as chamadas métricas diretas ou métricas técnicas, que analisam a saída gerada pelo modelo por meio da comparação com os valores reais previamente rotulados (DILMEGANI, 2025). Uma das formas utilizadas para essa comparação é a *matriz de confusão*, que organiza valores reais e previstos em uma estrutura tabular, permitindo visualizar a distribuição dos acertos e erros do modelo. Nessa matriz, o eixo horizontal representa os valores reais, enquanto o eixo vertical representa os

valores previstos (BISHOP, 2006). Sua interpretação baseia-se em quatro componentes fundamentais:

- (i) Verdadeiro Positivo (VP): evento positivo real corretamente previsto como positivo.
- (ii) Verdadeiro Negativo (VN): evento negativo real corretamente previsto como negativo.
- (iii) Falso Positivo (FP): evento negativo que o modelo classificou incorretamente como positivo.
- (iv) Falso Negativo (FN): evento positivo que o modelo classificou incorretamente como negativo.

A partir dos acertos e erros representados nessa matriz, diversos indicadores de desempenho podem ser calculados. Entre eles, destaca-se a *acurácia* (ACC), que mede a proporção total de previsões corretas, ou seja, a frequência com que o modelo acerta independentemente da classe analisada. A Equação I formaliza esse cálculo:

$$Acc = \frac{VP+VN}{VP+VN+FP+FN} \quad \text{(Equação I)}$$

A acurácia sintetiza o desempenho global do modelo, porém não diferencia o tipo de erro cometido e não avalia separadamente o desempenho por classe, o que pode levar a interpretações equivocadas em bases desbalanceadas. Assim, quando usada isoladamente, é mais apropriada para situações em que as classes possuem proporções equivalentes.

Para complementar essa avaliação, utiliza-se frequentemente a curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*). Trata-se de um gráfico que relaciona a taxa de verdadeiros positivos (TVP) com a taxa de falsos positivos (TFP) para diversos limiares de decisão. Esse gráfico ilustra o quanto o modelo é capaz de distinguir corretamente entre eventos positivos e negativos ao variar o limiar de classificação. Se considerarmos a *área sob a curva ROC* (AUC), é um indicador robusto derivado dessa representação e expressa a probabilidade de que um modelo atribua um valor de decisão maior a um exemplo positivo do que a um exemplo negativo escolhido aleatoriamente. Quanto maior a AUC, melhor é a capacidade discriminativa do modelo (DILMEGANI, 2025).

Capítulo 5 TRABALHOS RELACIONADOS

Apesar da existência de ampla literatura sobre a deposição de colágeno no estroma mamário durante a carcinogênese, há poucos estudos que associem tumores mamários felinos à avaliação do colágeno em tecidos corados com PSR em micrografia sob luz polarizada. Por esse motivo, neste capítulo, optou-se, primeiramente, por apresentar trabalhos que relacionaram a aplicação do método de coloração PSR na identificação de fibras colágenas em diversos tecidos animais, e, na sequência, trabalhos que aplicaram técnicas de processamento de imagens digitais na quantificação das fibras colágenas das imagens obtidas com essa coloração. Esperava-se mapear o que já foi produzido na área, destacando métodos, aplicações e limitações relatadas na literatura, de modo a contextualizar a contribuição e a relevância do presente estudo.

5.1 Uso de PSR na avaliação de colágeno

A literatura demonstra que a avaliação de colágeno, especialmente por meio da coloração PSR associada à microscopia de luz polarizada, pode fornecer evidências relevantes em diversos contextos fisiológicos e patológicos. GOPINATHAN (2020) destaca a versatilidade do PSR na análise da organização, maturação e propriedades óticas das fibras colágenas, permitindo interpretar alterações estruturais em tecidos normais e lesionados.

Estudos sobre fibras reticulares revelaram que, sob luz polarizada, tornam-se estruturas delgadas, verde-pálidas e fracamente birrefringentes, contrastando com as fibras colágenas espessas e fortemente birrefringentes em tons amarelo-vermelhos. Esses achados reforçam a alta especificidade do PSR para colágeno e a capacidade da técnica de realçar a birrefringência (MONTES *et al.*, 1980).

Em pele, a organização dérmica mostrou fibras finas esverdeadas (colágeno tipo III) em regiões superficiais e fibras espessas alaranjadas (tipo I) nas camadas profundas, refletindo sua distribuição fisiológica (JUNQUEIRA *et al.*, 1983).

Em relação à avaliação de processos cicatriciais, em anastomoses intestinais normais e em reparação, observou-se predomínio de fibras com birrefringência verde-amarelada, refletindo maior imaturidade e vulnerabilidade da região em cicatrização (RABAU et al, 1994). No miocárdio em reparo pós-infarto, verificou-se incremento progressivo do brilho e da intensidade da birrefringência das fibras colágenas, acompanhando a evolução do processo cicatricial (WHITTAKER et al, 1994).

Em relação a aplicação envolvendo neoplasias, tumores de glândulas salivares revelaram fibras alaranjadas em adenomas, enquanto adenocarcinomas de baixo grau e carcinomas adenoides císticos apresentaram fibras mais verde-amareladas (ALON et al, 2006). Em neoplasias foliculares da tireoide, fibras capsulares nas áreas de invasão foram intensamente amarelo-esverdeadas, enquanto regiões não invasivas mantiveram coloração vermelho-alaranjada (KOREN et al, 2001). Em tumores fibromatosos ameloblásticos felinos, tanto fibras finas quanto grossas mostraram predomínio de tons verdes, diferindo de padrões mais alaranjados encontrados em condições humanas semelhantes (NYSKA & DAYAN, 1995). No tecido ósseo, a caracterização polarizada permitiu diferenciar osteoide normal, formado por fibras finas, curtas e fracamente birrefringentes, de osteoide associado a osteossarcoma, que exibe fibras grossas, longas e fortemente birrefringentes, evidenciando alterações típicas de tumores malignos (JUNQUEIRA *et al.*, 1986). Em lesões epiteliais orais, a birrefringência do colágeno variou conforme o grau de alteração tecidual: displasias apresentaram predomínio de tonalidade amarelo-esverdeada, hiperplasias fibrosas inflamatórias mostraram coloração mais avermelhada, e carcinomas espinocelulares exibiram transição gradual do laranja (tumores bem diferenciados) para verde-amarelado (tumores pouco diferenciados) (VARGHESE et al, 2015).

Muitas são as aplicações de estudos de fibras colágenas e o interessante é que o que será apresentado neste trabalho pode contribuir não apenas com estudo relacionados a CMF, mas também na análise geral de tecidos colagenosos.

5.2 Processamento de imagens aplicado à quantificação de colágeno em PRS

Além da caracterização morfológica clássica, alguns estudos aplicaram técnicas de processamento digital de imagens, especialmente com uso do software *ImageJ*, para quantificação sistemática das fibras colágenas.

CALDEIRÓN e colaboradores, (2019) investigaram colágenos de tipo I, III e IV em próstata canina normal e em câncer de próstata, utilizando PSR e imunohistoquímica. Para a quantificação, aplicou limiarização no *ImageJ* conforme BAUMAN *et al.* (2014), com matiz de 121–179, saturação de 20–255 e brilho de 10–255, demonstrando maior quantidade de colágeno tipo III em tecido tumoral.

BEDOYA *et al.*, (2016) analisaram colágeno I e III no estroma do carcinoma de células escamosas cutâneo de cães, empregando o *plugin Threshold Colour* do *ImageJ*. Foram utilizados os valores de matiz 0–40 (colágeno tipo I) e 45–120 (colágeno tipo III), saturação 0–255 e brilho 5–225. O colágeno tipo III apresentou maior expressão em carcinomas bem diferenciados.

LIMA *et al.* (2020) quantificaram colágenos I e III em diferentes formas clínicas da hanseníase, aplicando os mesmos parâmetros de BEDOYA *et al.* (2016). Os resultados indicaram perda gradual de colágeno tipo I e aumento de colágeno tipo III em tecidos infectados, sugerindo remodelamento estromal associado ao processo inflamatório crônico.

COSTA *et al.* (2019) avaliar as colorações de PSR sob polarização para quantificar o colágeno total da pele de cães com dermatopatias endócrinas. Aplicou limiarização manual para remoção do fundo e maximização de pixels restantes para branco. Considerado PSR, a porcentagem de área de colágeno foi maior nos animais com hiperadrenocorticism e menor nos animais com hipotireoidismo.

JORGE *et al.* (2020) analisaram a densidade de colágeno estromal em carcinomas mamários felinos, correlacionando padrões espaciais (regiões periféricas e centrais) com a agressividade tumoral. Usando *ImageJ* e MATLAB, aplicaram métricas como entropia e

curtose. Observou-se aumento significativo da densidade periférica nos carcinomas e incremento na densidade central nos tumores, independentemente do grau histopatológico.

De modo geral, os estudos que investigam fibras colágenas em imagens coradas com PSR empregam metodologias relativamente simples, como limiarização por cor e técnicas estatísticas básicas, com o objetivo de quantificar ou comparar a distribuição de colágeno nos tecidos. Embora esses métodos promovam apenas uma análise superficial da complexidade estrutural presente nas imagens, seus resultados têm sido suficientes para levantar hipóteses relevantes e colaborativas sobre processos biológicos e patológicos. Observa-se, portanto, uma oportunidade evidente para ampliar e aprofundar a investigação desse tipo de imagem, incorporando abordagens computacionais mais avançadas que permitam extrair padrões mais refinados, revelar relações estruturais ocultas e sustentar hipóteses biológicas mais robustas.

Capítulo 6 METODOLOGIA

Este Capítulo apresenta a metodologia empregada na execução do estudo, detalhando as etapas que o compõe. São descritas as características do banco de imagens utilizado, os critérios de inclusão e exclusão de amostras a partir das quais foram produzidas as imagens, as técnicas computacionais e avaliações empregadas na quantificação de colágeno, os procedimentos de extração inicial de atributos, os métodos aplicados para identificação e remoção de *outliers* e o processo de seleção final das características mais relevantes. Por fim, aborda-se a etapa de classificação das imagens em tecido saudável ou neoplásico, conforme os algoritmos de IA definidos.

Os códigos computacionais utilizados neste trabalho foram todos implementados em linguagem *Python 3.9.25*, utilizando o ambiente integrado de desenvolvimento *Spyder* (RAYMOND, *et al.*, 2023).

6.1 Banco de imagens

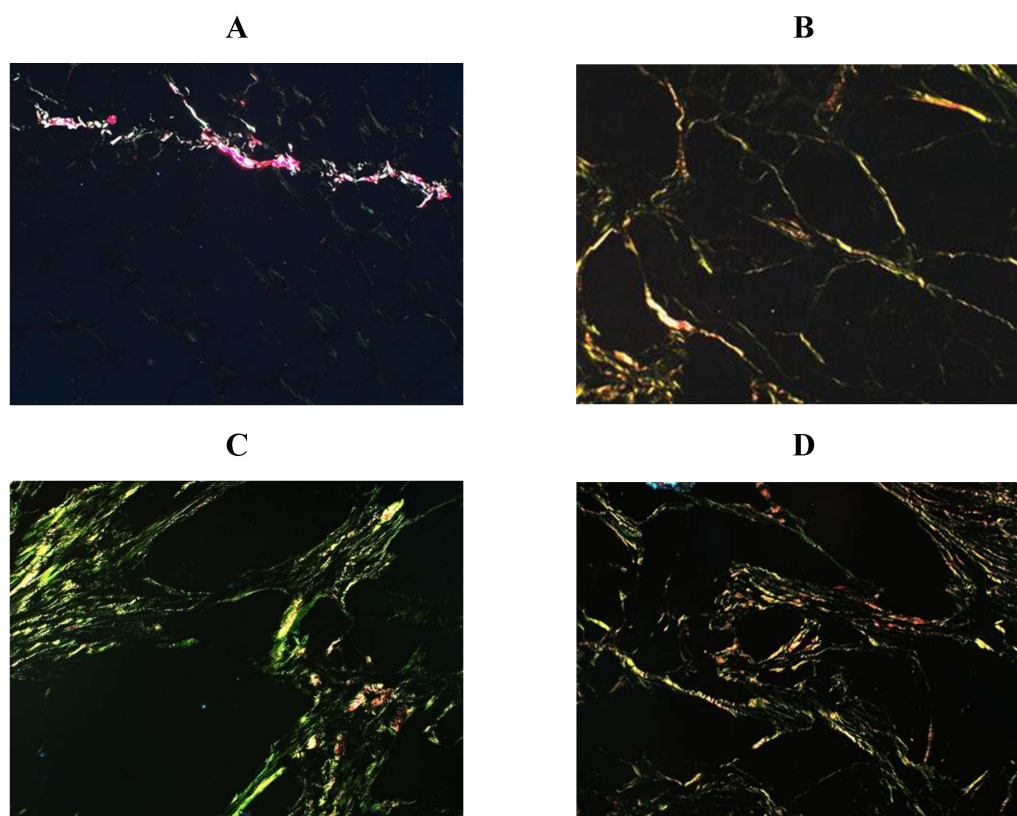
Neste trabalho foram usadas imagens histológicas de tecidos mamários de gatos. O banco de imagens possui 308 imagens de cortes histológicos corados pelo método histoquímico PSR, fotografadas sob luz polarizada. As imagens são classificadas conforme duas categorias principais: a graduação do tumor, com base na definição da forma da lesão, podendo ser de Grau I, Grau II, Grau III ou Controle, este último se tratando de tecidos saudáveis, e conforme localização, podendo ser de Centro ou Periferia. A Tabela 2 mostra a divisão das imagens conforme os dois grupos.

Todas as imagens tratam-se de imagens em escala RGB, de 8 bits e de resolução espacial 1368 x 1034. A Figura 6 apresenta exemplos de imagem do banco utilizado. Nela, é possível notar estruturas verdes e vermelhas sobre um fundo escuro, ou seja, fibras colágenas tipo I e tipo III no tecido mamário felino.

Tabela 2. Descrição do banco de imagens considerado.

Graduação	Localização		Total
	Centro	Periferia	
Controle	13	17	30
Grau I	8	13	21
Grau II	54	60	114
Grau III	72	71	143
Total	147	161	308

Figura 6. Exemplos de imagens de amostras de tecido mamário felino, coradas com PSR e fotografadas sobre luz polarizada. (A) controle / centro; (B) grau I / periferia; (C) grau II / centro; (D) grau III / periferia.



JORGE et al. (2020) descreveram sobre a produção das imagens, origem das amostras e seus critérios de exclusão. Em resumo, as imagens da classe controle advieram de amostras provenientes de gatas intactas, sem distúrbios reprodutivos, submetidas ao Serviço de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da UNESP de Botucatu. As imagens de carcinoma foram obtidas a partir do arquivo histopatológico do Serviço de Patologia Veterinária da Unimar de Marília - SP, e do laboratório de diagnóstico privado VetPat de Campinas - SP, coletadas de gatas que haviam sido submetidas à mastectomia. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA), protocolo 0245/2017, da FMVZ – UNESP Botucatu.

O parênquima mamário felino foi analisado em cortes histológicos de 5 µm corados por HE, após desparafinização e processamento histológico padrão, incluindo imersão em ácido fosfomolibdico, Vermelho Direto® e ácido clorídrico, seguido de desidratação e montagem em resina sintética.

6.2 Quantificação de fibras colágenas

Em uma etapa prévia, foi realizada a segmentação das imagens para quantificar os tipos de fibras presentes em cada classe. Para atingir esse propósito, algumas técnicas foram definidas e validadas por uma especialista em avaliação de exames histológicos. A expectativa principal era quantificar as fibras colágenas presentes nas imagens. Para isso, foi necessário separar as regiões de interesse, mais brilhantes, do fundo da imagem, mais escuro, e compreender como caracterizar corretamente essa região de interesse.

Assumindo que a separação entre fundo e região de interesse fosse satisfatória, a região de interesse seria composta exclusivamente por fibras colágenas. Conforme descrito na literatura, essa região seria formada por fibras do tipo I e III, que refletem luz nas cores verde e vermelha, respectivamente. Considerando a escala de cores de imagens digitais, RGB (vermelho, verde e azul), e sua escala secundária, CMY (ciano, magenta e amarelo), além de elementos que contribuem para o contraste (tons de branco, preto e cinza), sabia-se que a

imagem apresentava visualmente tons de vermelho e verde (os de interesse), como também outros tons secundários.

Tons de amarelo, azul e cinza (incluindo preto e branco) foram desconsiderados, durante o processamento, por não possibilitarem inferência clara sobre a presença de fibras vermelhas ou verdes. Após essa remoção, restaram apenas pixels nos tons de interesse. Em seguida, realizou-se a maximização desses tons para permitir a contagem de pixels e sua correlação com a proporção do fundo, possibilitando estimar quanto de vermelho e verde havia na imagem. Pixels em tons de vermelho e magenta foram considerados como fibras do tipo I e tons em tons de verde e ciano, foram considerados fibras do tipo III.

Buscou-se também pela possibilidade de determinar um limiar padrão, com base nas informações da própria imagem, que apresentasse bom desempenho em qualquer imagem PSR. Isso evitaria o uso de limiares manuais, frequentemente empregados em trabalhos semelhantes. Buscou-se, ainda, confirmar se técnicas de filtragem espacial poderiam auxiliar na remoção de ruídos causados por artefatos oriundos da preparação das lâminas ou da captura e digitalização das imagens. Assim, diferentes filtros foram testados.

Inicialmente, um método foi definido a partir de três avaliações cegas realizadas por uma especialista, utilizando imagens sorteadas aleatoriamente entre os grupos. Após todas as avaliações, o processamento escolhido pela especialista foi aquele quantificou as fibras a partir das técnicas, na respectiva sequência: (1) filtro de média circular 5×5 , (2) remoção de pixels com tons não pertencentes ao interesse (cinza, amarelo e azul), (3) aplicação de um limiar em cada canal da imagem, calculado pela soma da média e do desvio padrão de cada canal RGB, (4) maximização dos pixels remanescentes em verdes e vermelhos absolutos, e (5) contagem dos pixels e ponderação em relação ao fundo. Esse método apresentou bom desempenho para 308 das 353 imagens inicialmente analisadas, correspondendo a aproximadamente 90% do total. No entanto, 45 imagens não obtiveram resultados satisfatórios.

Buscou-se outro método que aproveitasse o maior número possível dessas 45 imagens, através da reavaliação da etapa de limiarização, com valores de limiares maiores, bem como diferentes ordens de aplicação dos filtros de suavização. Uma nova avaliação foi composta por 60 imagens, com as 45 imagens reprovadas e 15 selecionadas aleatoriamente entre as demais

308. Para esse novo conjunto de 60, foram geradas novas imagens a partir dos processamentos propostos. Todas as imagens e seus respectivos processamentos foram ressubmetidos a avaliação da especialista, anonimizados e embaralhados aleatoriamente, a fim de evitar tendências durante a tomada de decisão da profissional. Ela, então, selecionou as imagens que melhor representavam regiões de fibras colágenas evidenciadas em tons vermelho e verde. Com os resultados desta avaliação, concluiu-se que o melhor método de processamento das imagens era composto pelas seguintes etapas:

1. Remoção de pixels com tons não relevantes (cinzas, amarelos e azuis).
2. Limiarização por intensidade, com limiar individual para cada canal RGB.

$$\text{limiar}_R = \text{média}_R + \text{desvio padrão}_R + \text{mediana}_R \quad (\text{Equação II})$$

$$\text{limiar}_G = \text{média}_G + \text{desvio padrão}_G + \text{mediana}_G \quad (\text{Equação III})$$

$$\text{limiar}_B = \text{média}_B + \text{desvio padrão}_B + \text{mediana}_B \quad (\text{Equação IV})$$

3. Maximização da proporção de pixels verdes e vermelhos.
4. Contagem de pixels resultantes.

Esse método demonstrou boa eficácia, tanto ao destacar corretamente as fibras nas imagens que inicialmente seriam descartadas, quanto ao produzir impacto mínimo nas imagens cujo colágeno já havia sido previamente quantificado. A Figura 7 apresenta um exemplo de umas das 45 imagens reprovadas no método anterior e o resultado obtido com o novo método. A Figura 8 apresenta outro exemplo, mas com uma imagem que havia sido aprovada no primeiro método, para comparar-se com o segundo.

Figura 7. Comparação entre os resultados obtidos na quantificação de fibras colágenas, de uma imagem reprovada no primeiro método. (A) imagem original; (B) resultado visual da quantificação com o primeiro método; (C) resultado visual quantificação com o segundo método.

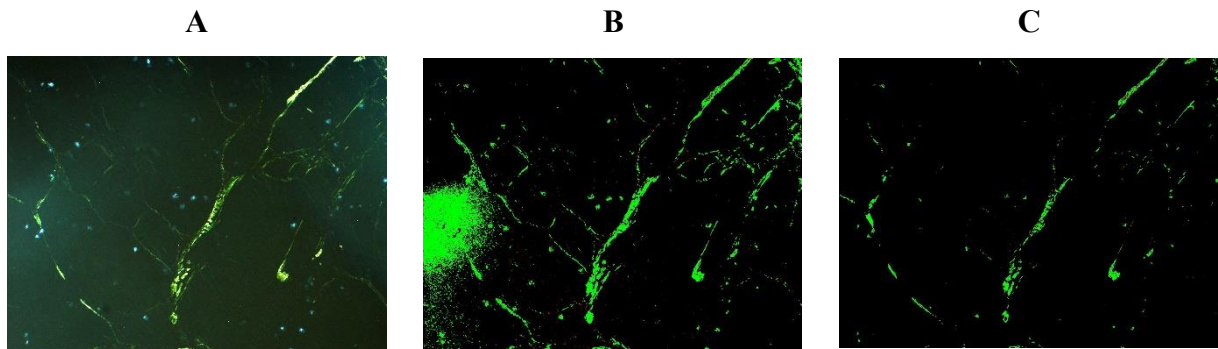
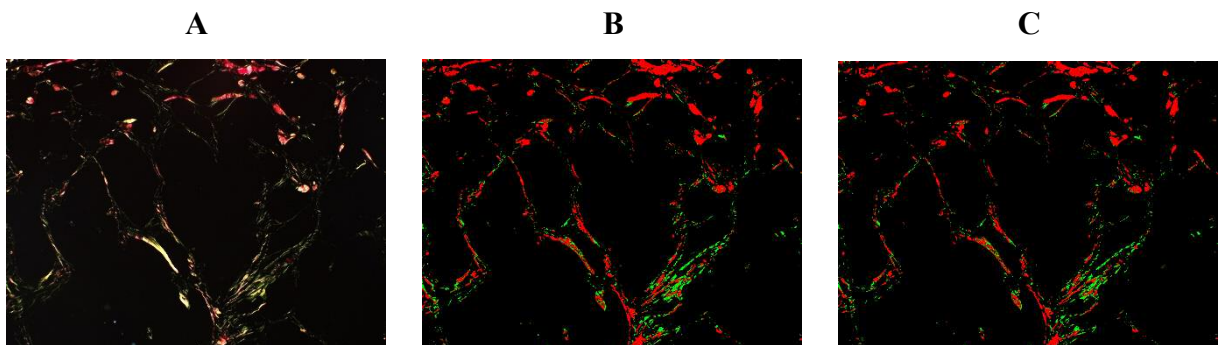


Figura 8. Comparação entre os resultados obtidos na quantificação de fibras colágenas, de uma imagem que já havia sido aprovada no primeiro método. (A) imagem original; (B) resultado visual da quantificação com o primeiro método; (C) resultado visual quantificação com o segundo método.

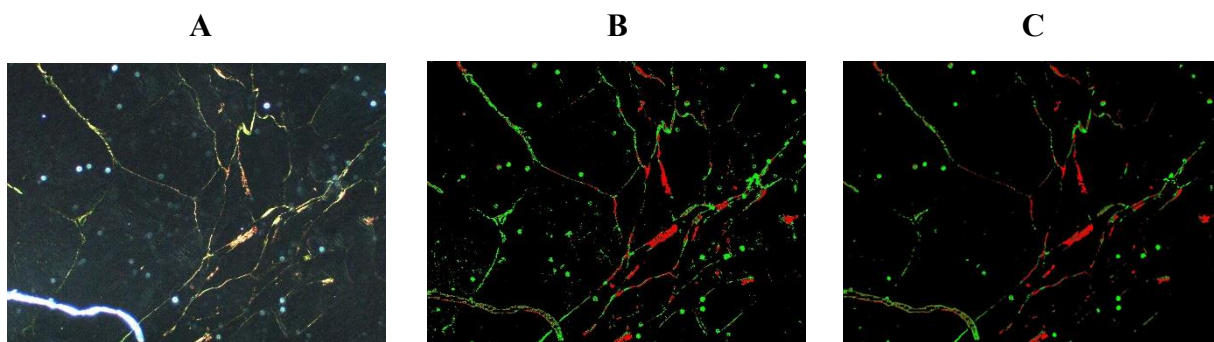


É importante destacar que o aumento dos valores dos limiares no processo de limiarização por intensidade faz com que fibras colágenas mais finas se confundam com o fundo e, conseqüentemente, sejam removidas da etapa de quantificação. Além disso, o uso de técnicas de filtragem espacial apresenta como efeito colateral o espessamento das bordas, resultando em fibras artificialmente mais robustas, como pode ser observado na Figura 8-B em comparação

com a Figura 8-C. Com o novo método (Figura 7, 8 e 9 – C) tem-se a remoção de fibras mais finas. Apesar disso, as fibras mais espessas têm tamanhos mais fidedignos quando comparados as imagens originais.

Dentre as 45 imagens inicialmente classificadas como descartáveis, 40 foram aprovadas pela especialista por apresentarem adequada identificação das fibras colágenas após os processamentos aplicados. Em relação às cinco imagens que ainda não alcançaram resultados satisfatórios, o principal motivo para a “não-aprovação” foi a presença excessiva de ruídos em tons de ciano, que prejudicaram a segmentação e a correta discriminação das fibras, por se confundirem com fibras do tipo III. A Figura 9 apresenta um exemplo de imagem que não obteve resultado satisfatório com os métodos aplicados

Figura 9. Comparação entre os resultados obtidos na quantificação de fibras colágenas, de uma imagem que reprovada em ambos os métodos. (A) imagem original; (B) resultado visual da quantificação com o primeiro método; (C) resultado visual quantificação com o segundo método.



Mesmo com a boa segmentação das fibras verdes e vermelhas, apenas a quantificação não seria suficiente para caracterizar as diferentes classes (Controle, Grau I, Grau II e Grau III). Assim iniciou-se as etapas que estão descritas a seguir, para efetiva caracterização das classes.

6.3 Pré processamento das imagens

Buscou-se então pela possibilidade de caracterizar as imagens com o uso das radiômicas, especialmente as de segunda ordem, com uso de atributos de textura, essencialmente os descritores de Haralick. Para realização da extração de atributos das imagens utilizadas neste trabalho, foi necessário iniciar por um simples pré-processamento, o qual consistiu em converter todas as imagens de escala RGB para escala de cinza. Neste caso, utilizou-se o método de transformação de luminância BT.601-2 (ITU-R, 2011), um método padronizado de ponderação dos canais de cor RGB, que através de um cálculo matemático, reflete a sensibilidade do olho humano à luz verde (de maior peso em comparação com as demais), seguida da vermelha e, por último, da azul.

A Equação V apresenta o cálculo matemático do método de conversão para escala de cinza ITU-R BT.601-2.

$$L = 0.299R + 0.587G + 0.114B \quad (\text{Equação V})$$

onde:

R = componente vermelha do pixel;

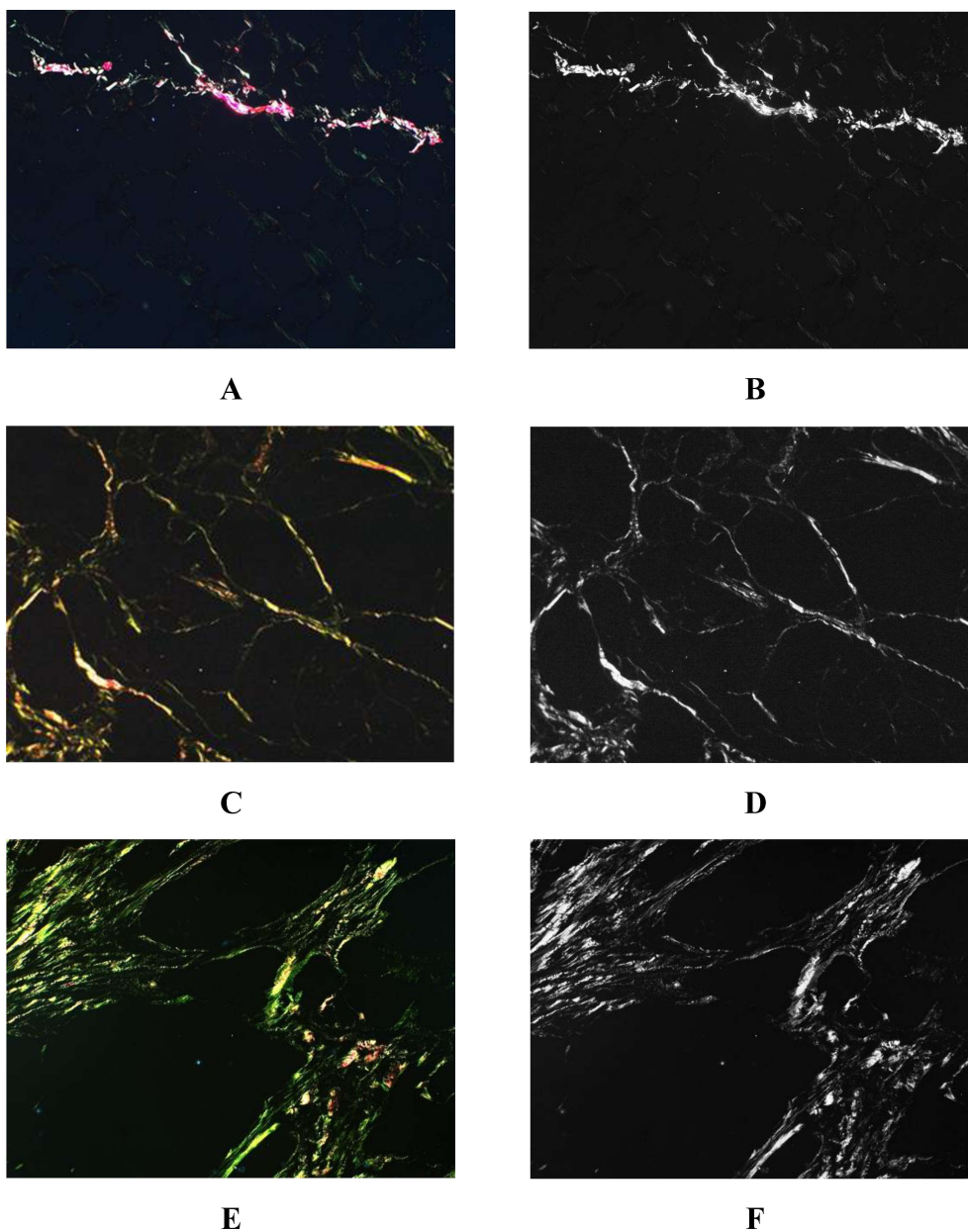
G = componente verde;

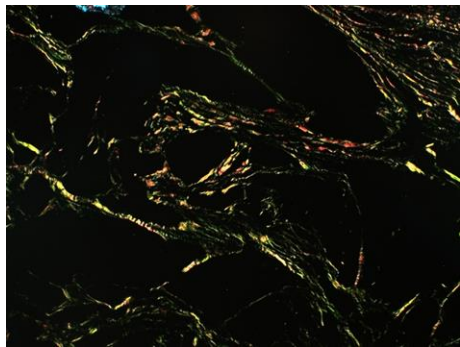
B = componente azul;

L = nível de cinza resultante.

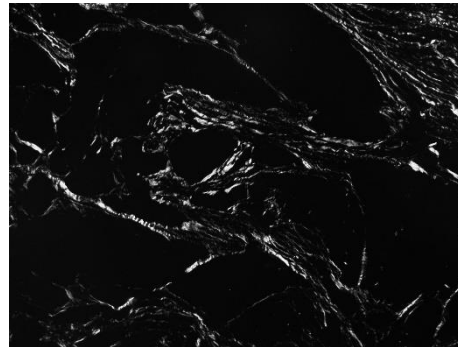
Na Figura 10, à direita, é possível visualizar o resultado da conversão para escala de cinza utilizando BT.601-2 (ITU-R, 2011), a partir das imagens originais, à esquerda. As regiões de cores claras correspondem às fibras colágenas identificadas pelo método PSR.

Figura 10. Exemplos de imagens utilizadas neste trabalho. (A) controle / centro; (B) imagem A em escala de cinza; (C) grau I / periferia; (D) imagem C em escala de cinza; (E) grau II / centro; (F) imagem E em escala de cinza; (G) grau III / periferia; (H) imagem G em escala de cinza.





G



H

6.4 Extração atributos

Com o pré-processamento finalizado, prosseguiu-se para a etapa de extração de atributos a partir das imagens convertidas em escala de cinza.

Foram determinados 13 atributos com base nos descritores de Haralick (HARALICK *et al.*, 1973), os quais foram calculados a partir da matriz de coocorrência de níveis de cinza, e a média do valor das quatro direções (0° , 45° , 90° e 135°).

Além dos 13 descritores de Haralick, foram incluídas como atributos duas medidas aritméticas adicionais: assimetria (*skewness*) e curtose (*kurtosis*). A escolha por incorporá-las fundamenta-se em resultados prévios reportados por JONDEAU & ROCKINGER (2001) e JORGE *et al.* (2020), que indicaram a relevância delas na diferenciação de padrões morfológicos. Uma das hipóteses deste estudo foi que tais medidas também apresentassem comportamento discriminativo e contribuíssem para a classificação das imagens nas etapas subsequentes.

No total, foram extraídos 15 atributos de cada imagem (listados na Tabela 3), os quais serão analisados no Capítulo 7, em relação ao seu potencial discriminativo entre os diferentes grupos experimentais.

Tabela 3. Lista de atributos considerados neste estudo.

1	Uniformidade	6	Média da soma	11	Entropia da diferença
2	Contraste	7	Variância da soma	12	Medida da informação de correlação 1 (MIC1)
3	Correlação	8	Entropia da soma	13	Medida da informação de correlação 2 (MIC2)
4	Soma dos quadrados: variância	9	Entropia	14	<i>Skewness</i>
5	Momento da diferença inversa	10	Variância da diferença	15	<i>Kurtosis</i>

6.5 Seleção inicial de atributos

Conforme as características das imagens de acordo com descrito na Tabela 2 alguns agrupamentos podem ser feitos para que se aumente a quantidade de imagens e se reduza a quantidade classificações das imagens, as quais resultarão em diferentes análises. Buscou-se pela simplificação da classificação, em um primeiro momento.

Na seleção inicial dos atributos, para que se compreendesse o comportamento dos valores conforme algumas classes, trabalhou-se com dois tipos de classificação:

- controle vs. baixo grau vs. alto grau;
- controle centro vs. controle periferia vs. tumor centro vs. tumor periferia.

6.5.1 Controle vs. baixo grau vs. alto grau

Conforme CASTANHARO et al., 1998, pode-se adotar a divisão “baixo grau” e “alto grau” para tumores em tecido mamário. Para esta primeira análise, generalizou-se a localização da lesão. Manteve-se o grupo Controle. Imagens de lesões de grau I e grau II compuseram a

classe “baixo grau”, enquanto imagens de lesões de grau III compuseram a classe “alto grau”. A Tabela 4 apresenta a quantidade de imagens por classe nesta análise.

Tabela 4. Imagens consideradas na análise “controle vs. baixo grau vs. alto grau”.

Classe	Quantidade de imagens
Controle	30
Baixo grau	135
Alto grau	143

6.5.2 Controle centro vs. controle periferia vs. tumor centro vs. tumor periferia

Um segundo agrupamento foi feito, desta vez com 4 classes, considerando agora, a localização da lesão. Neste agrupamento, manteve-se as classes originais “controle centro” e “controle periferia”, e uniu-se todas as imagens de tecidos alterados em uma classe “tumor” (grau I, II e III), mas também, mantendo separadas as localizações. Surgiu então as duas classes “tumor centro” e “tumor periferia”. A Tabela 5 apresenta o quantitativo de imagens por classe dessa análise.

Tabela 5. Quantitativo de imagens de cada classe; divisão de imagens em 4 classes.

Classe	Quantidade de imagens
Controle centro	13
Controle periferia	17
Tumor centro	134
Tumor periferia	144

6.6 Curvas gaussianas

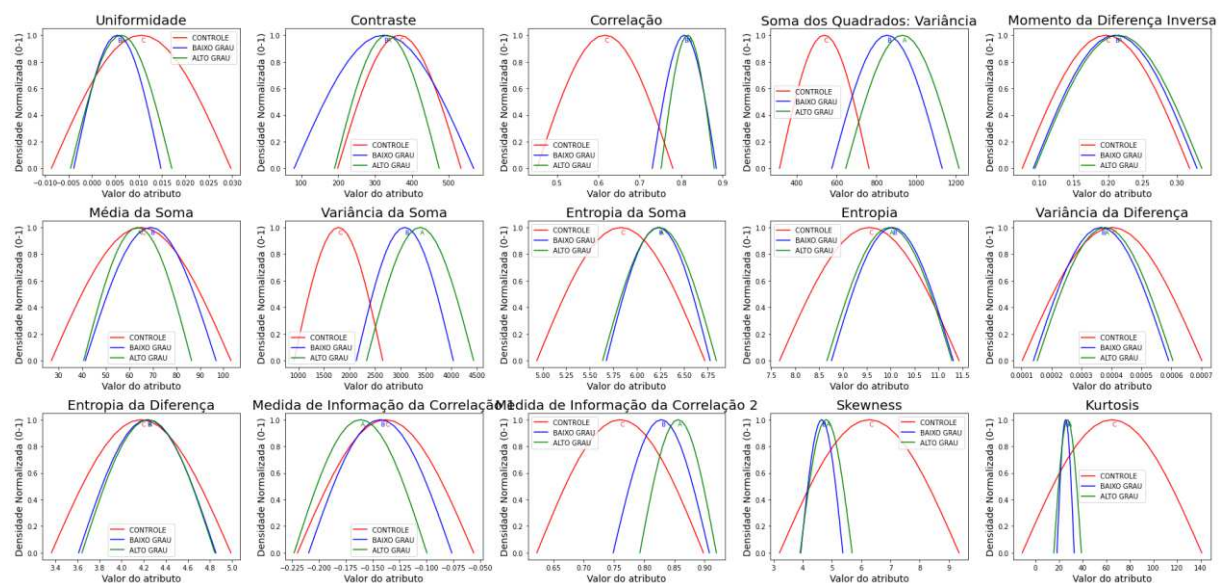
Após a fase de extração de atributos, a seleção de características é essencial para reduzir a dimensionalidade do conjunto de dados, otimizando o custo computacional e identificando os

atributos de maior relevância para a etapa subsequente de classificação. A técnica empregada para a seleção de atributos consiste na construção da distribuição normal (curva gaussiana).

A curva gaussiana é calculada a partir da média e do desvio padrão dos dados previamente normalizados. O ponto central da crista da curva, demonstra o valor da média das amostras, enquanto a largura de sua base está relacionada a dispersão das amostras. Curvas mais estreitas demonstram amostras com valores mais agrupados, o que significa que os valores estão mais próximos da média. Curvas mais largas possuem amostras com valores mais dispersos, ou seja, mais afastados da média (HALL, 2000).

O critério de seleção dos melhores atributos caracterizadores das imagens, baseou-se na análise visual de suas curvas gaussianas: quanto menor fosse a sobreposição das curvas gaussianas entre as classes, melhor será a eficácia do atributo na classificação das imagens. Dessa forma, gerou-se curvas gaussianas conforme as classes “controle/baixo grau/alto grau” e “controle-centro/controle-periferia/tumor-centro/tumor-periferia”. A Figura 11 apresenta as curvas gaussianas de cada um dos atributos considerados, conforme a divisão “controle/baixo grau/alto grau”.

Figura 11. Curvas gaussianas “controle/baixo grau/alto grau”.



Em relação a “correlação” e “entropia da soma”, nota-se uma boa diferenciação entre a classe controle e as demais classes. Entre baixo grau e alto grau, há pouca diferenciação. Apesar disso, estes podem ser atributos úteis na separação de imagens de tecido normal e alterado. No caso de “entropia da soma”, houve mais sobreposição das curvas que “correlação”.

Em relação a “variância da soma” e “soma dos quadrados: variância” também se nota uma boa diferenciação entre controle e as demais classes. Entre baixo grau e alto grau, há mais diferenciação quando comparado com “correlação” e “entropia da soma”.

Em relação a “medida de informação da correlação 2”, há uma pequena diferenciação entre os grupos, mas com grande sobreposição entre eles.

Demais atributos, “uniformidade”, “contraste”, “momento da diferença inversa”, “média da soma”, “variância da diferença”, “entropia da diferença”, “medida de informação da correlação 1”, “*skewness*” e “*kurtosis*” não apresentaram boa separação entre os grupos.

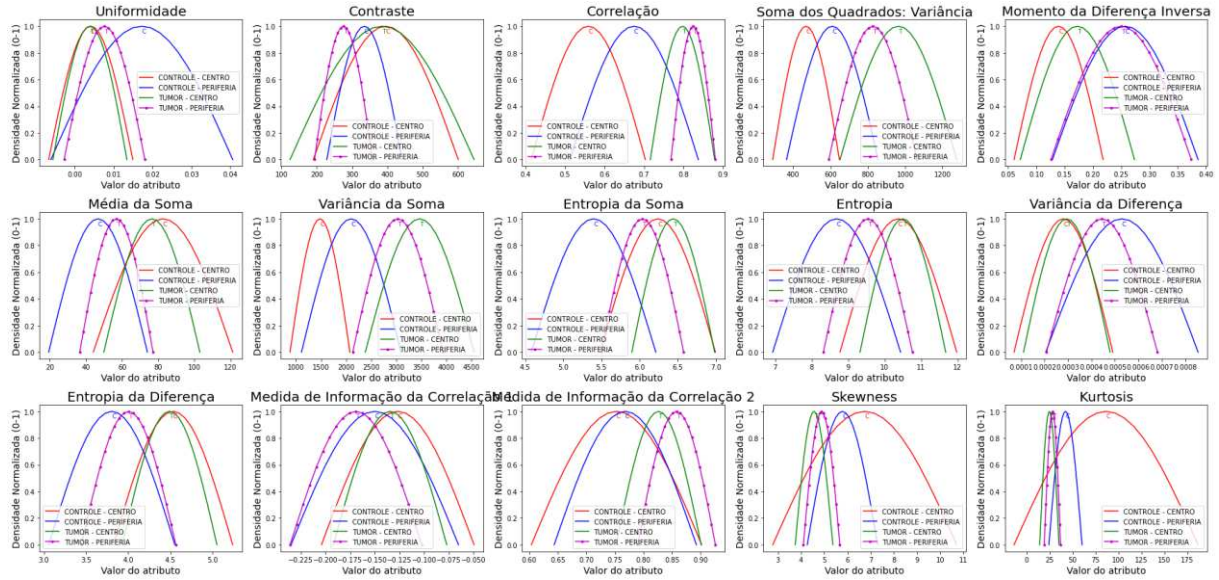
Os atributos de destaque no agrupamento “*controle/baixo grau/alto grau*” foram *correlação*, *variância da soma*, *entropia da soma* e *soma dos quadrados: variância*. Esses 4 atributos principais seguiram para a avaliação de *outliers* do Capítulo 8.

Por outro lado, é possível observar as curvas gaussianas comparativas entre os 15 atributos, conforme as classes “*controle centro/controle periferia/tumor centro/tumor periferia*” na Figura 12.

Neste caso, as curvas apresentam melhor separação nos atributos *correlação*, *soma dos quadrados: variância* e *entropia da soma*. Esses três atributos concordam com aqueles que foram escolhidos no caso *controle/baixo grau/alto grau*. Manteve-se então, para etapa de avaliação e remoção de *outliers*, quatro atributos:

- Correlação
- Variância da soma
- Entropia da soma
- Soma dos quadrados: variância

Figura 12. Curvas gaussianas dos atributos considerados, do agrupamento “controle centro vs. controle periferia vs. tumor centro vs. tumor periferia”.



6.7 Remoção de outliers

Após a primeira plotagem de curvas, definiu-se quais os melhores atributos descreveram as imagens consideradas. A partir disto, foi realizado um estudo de *outliers* para remover valores muito discrepantes do conjunto. Espera-se que a remoção melhore a qualidade, precisão e confiabilidade das análises estatísticas e modelos de dados, pois esses valores discrepantes podem distorcer significativamente os resultados. Para além disso, em aprendizado de máquina e modelagem preditiva, os *outliers* podem impactar negativamente o desempenho de um modelo, fazendo com que ele se ajuste mal aos dados principais e gerando previsões menos precisas.

Utilizou-se *GraphPad Prism* (GRAPHPAD, 2025) para realizar a localização dos *outliers*. Utilizou-se o método ROUT (*Robust Regression and Outlier Removal*) com valor $Q = 1\%$. O método ROUT identifica valores discrepantes em ajustes de regressão não linear, combinando regressão robusta e controle estatístico de falsos positivos. Inicialmente, os dados

são ajustados por uma forma robusta de regressão não linear, construída sob a suposição de que a dispersão segue uma distribuição Lorentziana, o que reduz a influência de pontos extremos. Esse ajuste é realizado por um procedimento adaptativo que se torna progressivamente mais robusto ao longo das iterações. Os *outliers* são identificados, na sequência, por Taxa de Falsos Positivos. Todas as taxas de Q foram definidas em 1 %, conforme recomendação da documentação do software *GraphPad Prism*. A cada execução, os *outliers* eram removidos do conjunto de dados. Repetiu-se o método ROUT com Q=1% até que não mais houvesse *outliers*, tanto para os atributos de três classes, quando de quatro classes. A execução da identificação de *outliers* foi feita individualmente em cada atributo considerado.

Todas as imagens citadas pelo software como *outliers* foram desconsideradas para as etapas subsequentes do estudo. No total, 20 imagens foram removidas. O banco de imagens prosseguiu para as próximas etapas com 288 imagens. A Tabela 6 apresenta a relação de imagens removidas conforme as classificações.

Após a etapa de identificação e remoção de *outliers* pelo método ROUT, procedeu-se à seleção dos atributos mais relevantes, mais uma vez com o uso de curvas gaussianas, porém considerando as classes das imagens.

Tabela 6. Imagens desconsideradas através da identificação de *outliers*.

Graduação	Localização		Total
	Centro	Periferia	
Controle	12	16	28
Grau I	7	10	17
Grau II	51	57	108
Grau III	67	68	135
Total	137	151	288

6.8 Seleção final de atributos

Nesta etapa espera-se determinar quais atributos de textura melhor caracterizam imagens consideradas. Para isso, serão consideradas algumas classes: primeiro, as classes “controle” e “tumor” e, na sequência, “baixo grau” e “alto grau”. Conforme o viés de localização, as classes também podem ser analisadas da seguinte maneira:

- (a) Controle vs. Tumor
 - i. Centro
 - ii. Periferia
- (b) Baixo grau vs. Alto grau
 - i. Centro
 - ii. Periferia

As classes também foram definidas de acordo com a ordem de desenvolvimento dos modelos de classificação, que serão descritos no próximo capítulo. A ideia é que se distinga, inicialmente, imagens de tecidos saudáveis e alterados, para que em seguida, se diferencie, dentre os tecidos alterados, tumores de baixo grau e tumores de alto grau.

6.8.1 Controle vs. Tumor

As classes foram definidas considerando a diferença entre imagens de tecido normal e de tecido tumoral, independentemente da posição ou do grau da lesão. Logo, tem-se duas classes: “controle” e “tumor”. A Tabela 7 apresenta a quantidade de imagens das classes consideradas.

Tabela 7. Quantidade de imagens consideradas nas classes controle e tumor, com adição da característica Localização.

Graduação	Localização		Total
	Centro	Periferia	
Controle	12	16	28
Tumor	125	135	260
Total	137	151	288

Foram consideradas, a partir dos valores dos atributos extraídos dessas imagens, 3 tipos de plotagens de curvas gaussianas, sendo elas:

- i. controle vs. tumor;
- ii. controle vs. tumor (centro);
- iii. controle vs. tumor (periferia).

Essa expansão da visão permitirá a avaliação de semelhanças e diferenças entre as classes principais e o viés de localização.

6.8.2 Baixo grau vs. Alto grau

Outras duas classes foram definidas: “baixo grau” e “alto grau”, em que “baixo grau” corresponde a imagens de tecidos alterados de grau I e II, enquanto “alto grau” corresponde a imagens de tecidos alterados de grau III. A Tabela 8 apresenta o quantitativo de imagens consideradas em cada classe, também mostrando o viés de localização.

Tabela 8. Quantidade de imagens consideradas nas classes baixo grau e alto grau, com viés de Localização.

Graduação	Localização		Total
	Centro	Periferia	
Baixo grau	58	67	125
Alto grau	67	68	135
Total	125	135	260

Neste caso também foram gerados 3 tipos de plotagens de curvas gaussianas, sendo eles:

- iv. baixo grau vs. alto grau;
- v. baixo grau vs. alto grau (centro);
- vi. baixo grau vs. alto grau mor (periferia).

6.9. Classificação de imagens

A última etapa do estudo consiste em classificar as imagens conforme dos rótulos das classes definidas e os valores dos melhores atributos de caracterização definidos anteriormente. Para isso, determinou-se os algoritmos de aprendizado de máquina utilizados, realizou-se o balanceamento das amostras de cada classe e definiu-se os melhores hiperparâmetros e os métodos de avaliação e treinar os modelos.

Em relação aos algoritmos escolhidos, dentre a infinidade disponível para realizar atividades de classificação, o principal ponto considerado para a escolha, foi a capacidade de obter bons resultados apesar da baixa quantidade de imagens, quando comparado com modelos aplicados em tarefas envolvendo imagens médicas. Dentre os algoritmos, foram escolhidos (i) *Random Forest* (ii) *XGBoost* (iii) *Multilayer Perceptron*. Todos os modelos testados neste trabalho foram baseados em um dos 3 algoritmos citados.

Iniciando pela classificação entre controle e tumor, há 249 imagens de amostras de tecido alterado e apenas 28 de tecido saudável. Para evitar tendências para a classe majoritária (tumor), foi realizado o balanceamento entre as classes através de subamostragem aleatória. Na subamostragem aleatória, uma quantidade similar a quantidade de amostras da classe minoritária é escolhida aleatoriamente da classe majoritária, e desconsidera-se as demais. Neste caso, optou-se por realizar a subamostragem de maneira proporcional à quantidade total de imagens, respeitando-se tanto a proporção entre os graus, quanto entre as localizações. No total, 30 imagens foram selecionadas aleatoriamente dentre as imagens da classe tumor, das quais 10 pertenciam ao Grau I, 10 ao Grau II e 10 ao Grau III. Ainda, 4 imagens dentre as 10, pertencem a localização Centro e as demais 6, a Periferia. A Tabela 9 apresenta o quantitativo de imagens selecionadas para a primeira fase de classificação.

Tabela 9. Quantitativo de imagens utilizadas na primeira etapa de classificação.

		Localização		
Classe	Graduação	Centro	Periferia	Total
Controle	Controle	12	16	28
Tumor	Grau I	4	6	30
	Grau II	4	6	
	Grau III	4	6	

Após realização do balanceamento entre as classes, o parâmetro definido foi a divisão de amostras entre conjunto de treinamento e conjunto de teste. O mais comum neste caso, é utilizar-se a proporção 70/30, em que 70% das amostras são usadas para treino e 30%, para teste. Neste caso, a quantidade total de imagens utilizadas no treinamento seria de 41 e para teste, apenas 17. Por haver uma quantidade baixa de imagens, outro método de divisão treinamento/teste foi escolhido para esta etapa: o *Leave-one-out-cross-validation* (LOOCV).

A validação cruzada é uma abordagem geral para avaliar a precisão preditiva de um modelo estatístico com o objetivo de comparação, quando há baixa quantidade de amostras. (GEISSER & EDDY 1979; HOETING *et al.*, 1999; ANDO & TSAY 2010; VEHTARI & OJANEN 2012). LOOCV é uma técnica de validação cruzada que omite uma amostra por vez, que será usada na etapa de teste e, em seguida, realiza treinamento com todas as outras amostras. Ele repete o treinamento seguidamente, conforme o número de amostras, sempre deixando uma como amostra de teste. A precisão preditiva é avaliada calculando-se a média de todos os resultados obtidos (WEBB *et al.*, 2010). LOOCV é uma técnica computacionalmente dispendiosa, pois exige o ajuste do modelo de acordo com a quantidade de amostras consideradas, mas demonstra-se compensativa em casos de pequenas amostras. (BÜRKNER *et al.*, 2021).

Outra questão considerada em busca de melhores resultados nos modelos desenvolvidos é a otimização dos hiperparâmetros. Ela atua realizando ajustes nas configurações padrões de cada algoritmo, de maneira que se determine quais hiperparâmetros serão otimizados, dentre os vários que um único modelo pode possuir, podendo ser numéricos, categóricos ou binários (JUNIOR & FAGUNDES, 2023). Neste estudo, realizou-se esse processo através do algoritmo *Random Search*, que utiliza uma faixa de valores para cada hiperparâmetro, por meio de combinações aleatórias entre eles (ANDRADÓTTIR, 2006). A Tabela 10 apresenta os hiperparâmetros selecionados para otimização e a faixa de valores consideradas para cada um.

Tabela 10. Hiperparâmetros testados para otimização dos modelos.

Modelo	Hiperparâmetro	Valores Testados	Descrição
Random Forest	<i>n_estimators</i>	100 a 1000	Número de árvores.
	<i>max_depth</i>	10, 20, 30, 40, 50, None	Profundidade máxima das árvores.
	<i>min_samples_split</i>	2, 5, 10, 15	Número mínimo de amostras necessárias para dividir um nó.

<i>XGBoost</i>	<i>learning_rate</i>	0,01 a 0,3	Taxa de aprendizado.
	<i>max_depth</i>	3 a 10	Profundidade máxima das árvores.
	<i>colsample_bytree</i>	0,5 a 0,9	Proporção de atributos amostrados por árvore.
	<i>subsample</i>	0,6 a 0,9	Fração de amostras utilizadas para treinar cada árvore.
<i>MLP</i>	<i>learning_rate</i>	0,01; 0,001 00001	Taxa de aprendizado do otimizador <i>Adam</i> .
	<i>units_1</i>	4 a 32	Quantidade de neurônios da primeira camada oculta.
	<i>use_second_layer</i>	<i>True</i> ou <i>False</i>	Decide se a rede terá segunda camada oculta.
	<i>units_2</i>	2 a 16	Número de neurônios da segunda camada oculta.

Em relação ao modelo MLP, na camada de saída, utilizou-se otimizador *Adam*, amplamente usado em modelos de classificação supervisionada, função de perda *Binary Crossentropy*, por se tratar de classificação binária e uso de *acurácia* como métrica de avaliação de desempenho durante o treinamento.

Antes do início dos treinamentos dos modelos, foi realizada a normalização de todos os valores de atributos considerados, para evitar influência de algum classificador pela grandeza de algum dado. O método de normalização utilizado foi a padronização, em que a média de uma distribuição é diminuída do valor de cada atributo, seguido pela divisão pelo desvio padrão da distribuição.

$$Normalização = \frac{X-\mu}{\sigma} \quad (\text{Equação VI})$$

X = valor real do atributo;

μ = média aritmética dos valores de um atributo;

σ = desvio padrão dos valores de um atributo.

Finalizado o processo de classificação de tecidos saudáveis e alterados, prosseguiu-se com a segunda etapa da classificação, que consistiu em classificar os tecidos alterados em tumor de baixo ou alto grau. Os mesmos algoritmos foram utilizados, manteve-se a mesma estratégia de otimização por *Random Search* e padronização.

Em relação ao balanceamento do banco, dispunha-se de mais imagens de tumor que de tecido normal, sendo 125 imagens de tumor de baixo grau e 135 de tumor de alto grau. Optou-se por manter a subamostragem aleatória, escolhendo-se aleatoriamente 125 imagens de tecido de alto grau e mantendo-se também a proporção de imagens entre centro e periferia. A Tabela 11 apresenta a seleção de imagens para a segunda etapa da classificação.

Tabela 11. Quantitativo de imagens utilizadas na segunda etapa de classificação.

Classe	Graduação	Localização		Total
		Centro	Periferia	
Baixo grau	Grau I	7	10	125
	Grau II	51	57	
Alto grau	Grau III	58	67	125

Capítulo 7 SELEÇÃO FINAL DOS PRINCIPAIS ATRIBUTOS

Este capítulo apresenta os resultados obtidos a partir da análise das curvas gaussianas referentes aos 15 atributos considerados, destacando seu desempenho na caracterização das classes analisadas. Além disso, discute-se a relação entre esses atributos e os conceitos biológicos associados à carcinogênese no CMF, permitindo uma interpretação integrada entre os achados computacionais e os fenômenos biológicos subjacentes.

7.1 Controle vs. Tumor

Iniciando pela avaliação das curvas gaussianas geradas para comparar atributos das classes controle e tumor, a Figura 13 mostra as curvas dos 15 atributos considerados.

Neste caso, destacaram-se como atribuídos melhores, por ordem de distância das curvas:

1. *Skewness*
2. *Kurtosis*
3. Variância da soma
4. Soma dos quadrados: variância
5. Correlação
6. Entropia da soma
7. Medida da informação de correlação 2.

Esses sete atributos serão utilizados nas entradas dos algoritmos de classificação, para classificar imagens de tecido saudável de tecido alterado, no próximo capítulo. Outros atributos obtiveram uma pequena separação, mas com sobreposição de curvas maior, mas não serão utilizados na classificação das imagens.

- Média da soma
- Entropia

- Variância da diferença
- Entropia da diferença

Os demais atributos apresentaram baixa ou nenhuma separação entre curvas, o que significa que não podem ser considerados como bons descritores da diferenciação entre imagens. Logo, também não prosseguirão para a etapa de classificação. São eles:

- Uniformidade
- Contraste
- Momento da diferença inversa
- Medida da informação de correlação 2

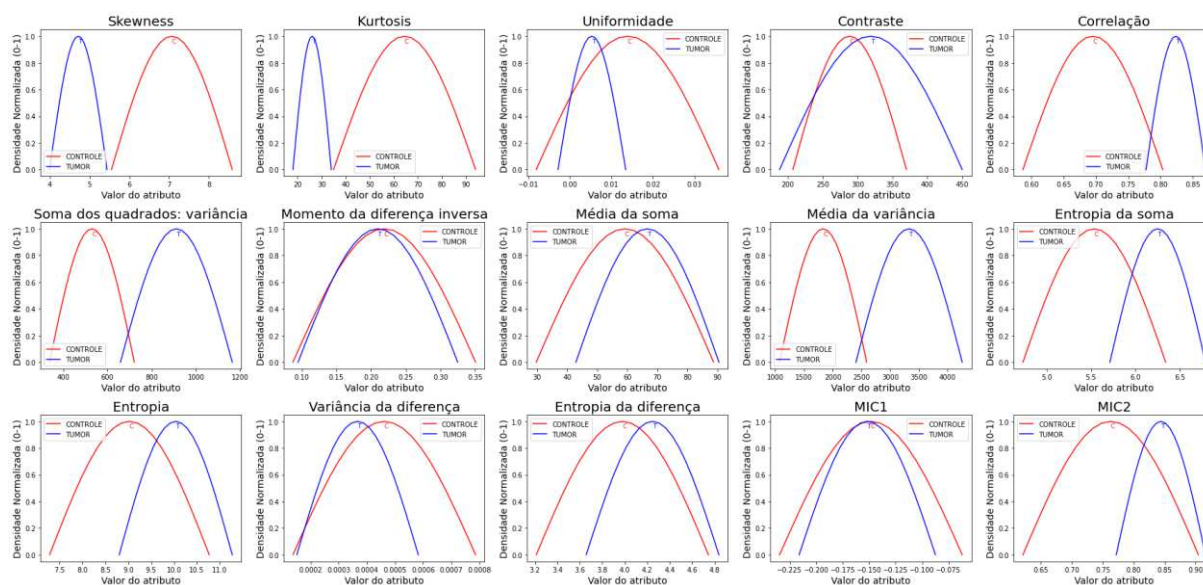
Para além da seleção visual de atributos, é essencial considerar as razões biológicas por trás das diferenças observadas nestas características, especialmente em termos de estrutura do tecido e acúmulo de colágeno durante o processo de carcinogênese.

Iniciando por *skewness*, os tecidos saudáveis apresentaram valores mais altos em comparação com os tecidos alterados. Isto sugere que o tecido saudável não é completamente uniforme e possui um padrão de intensidades que pende para um dos lados, especialmente para o lado os pixels do fundo, devido aos valores mais altos de *skewness* no controle. Sob a coloração PSR, os tecidos normais exibem fibras de colágeno mais finas e mais uniformemente distribuídas, que refletem a luz de forma menos homogênea e podem criar picos de intensidade assimétricos, aumentando assim a *skewness*. Em contraste, os tecidos tumorais têm uma deposição de colágeno mais densa, o que leva a um padrão de intensidade mais equilibrado com menor *skewness*.

Kurtosis apresentou maior valor em tecidos saudáveis, sugerindo maior concentração de intensidades em torno da média nesse tecido. Isso pode ser explicado pela presença de fibras de colágeno mais finas, que formam pequenas regiões de contraste dentro do fundo da imagem. Essas variações, embora discretas, geram picos mais acentuados na distribuição de intensidades, aumentando a curtose. Por outro lado, os tecidos alterados exibem deposição de colágeno mais densa e espessa, resultando em uma distribuição de intensidades mais ampla e uniforme. Esse comportamento reduz a concentração de valores próximos da média e,

consequentemente, leva a valores menores de curtose. *Kurtosis* já se demonstrou eficaz em prever sobre a densidade estromal no CMF, principalmente na região central do tumor, sendo seus valores inversamente proporcionais à quantidade fibras colágenas (JORGE *et al.*, 2020). O mesmo achado foi identificado neste estudo, conforme citado, em acordo com a literatura.

Figura 13. Curvas gaussianas de atributos de textura das classes controle e tumor.



A *variância da soma* apresentou valores significativamente mais altos nos tecidos tumorais quando comparados aos tecidos normais. Isso indica maior variação de intensidades locais, refletindo uma perda de uniformidade estrutural. Tal comportamento é consistente com a literatura, que descreve o estroma tumoral como uma região de textura mais caótica, marcada por áreas densamente compactadas de colágeno, fibras desorganizadas e gradações abruptas de intensidade. Isso pode ser justificado pelo rearranjo da MEC, aumentando a deposição das fibras colágenas e com isso perdendo a uniformidade estrutural. Em contraste, os tecidos saudáveis tendem a apresentar uma arquitetura mais homogênea, com fibras distribuídas de maneira mais regular, o que resulta em menor variabilidade e, portanto, em valores mais baixos de *variância da soma*.

A *correlação* apresentou valores curiosos. Os tecidos tumorais apresentaram valores de correlação mais altos do que os tecidos normais. Esperava-se exatamente o oposto, dado que as

estruturas dos tecidos normais são mais organizadas, e, portanto, pixels estariam mais correlacionados aos vizinhos. Sugere-se então, que os valores de correlação mais altos nos tecidos tumorais podem significar que, apesar da desigualdade geral, os padrões de intensidade local tendem a se repetir, possivelmente devido ao arranjo denso e repetitivo de fibras de colágeno presente na neoplasia mais graduada. Este achado pode refletir padrões microestruturais típicos do estroma tumoral.

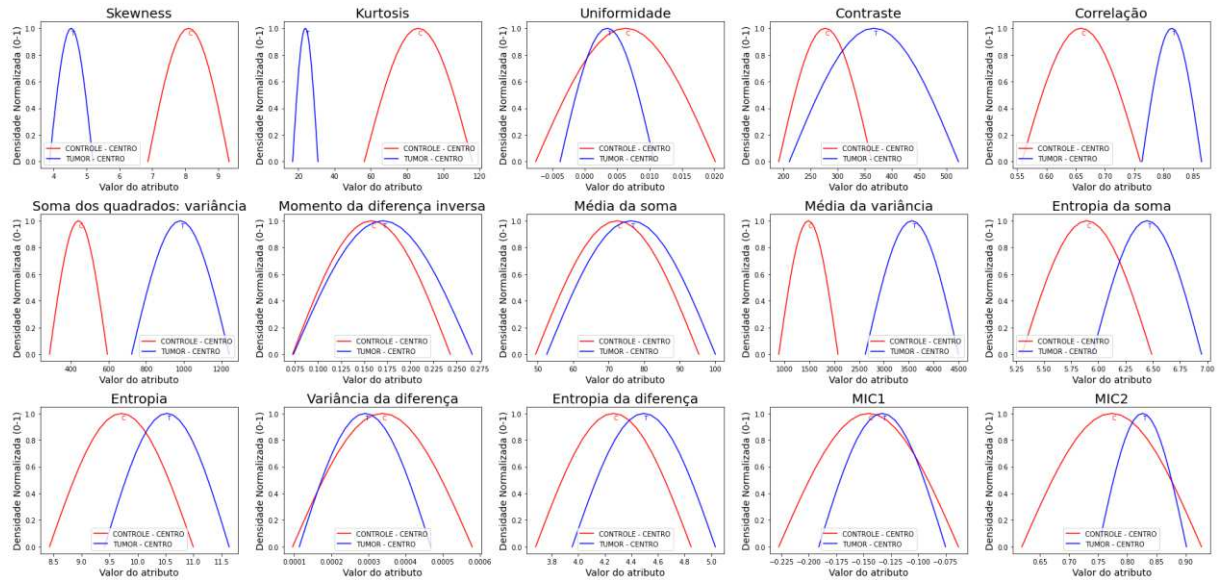
A *soma dos quadrados: variância* apresentou valores mais elevados nos tecidos tumorais, indicando maior variação local de intensidade. Esse comportamento pode estar associado à textura mais caótica do estroma tumoral, caracterizado por regiões densas de colágeno e fibras irregulares que refletem a luz de forma mais intensa e variável, em comparação com o padrão mais uniforme observado nos tecidos saudáveis.

A *entropia da soma* apresentou valores mais altos para imagens de tecidos tumorais, do que os tecidos normais, apoiando o padrão desorganizado e variado típico do colágeno no microambiente tumoral.

Por fim, *MIC2* teve valores mais altos em tecidos tumorais, o que sugerem que, apesar da sua aparência globalmente variada, o desenvolvimento do CMF cria padrões locais de ordem estrutural, particularmente relacionados à remodelação do colágeno. A presença de fibras alinhadas, o aumento da densidade estromal e as assinaturas de colágeno associadas a tumores impulsionam a dependência local entre os níveis de cinza, elevando o *MIC2*. Assim, o tecido tumoral mostra uma correlação local de nível de cinza mais forte do que o tecido normal, que é mais variado, mas menos relacionado localmente.

Considerada a análise de cada atributo selecionado, observou-se o comportamento de tecidos com viés de localização. Realizando a análise das curvas apenas considerando imagens classificadas como “centro”, obteve-se um resultado similar as classes gerais. A Figura 14 apresenta as curvas gaussianas geradas apenas considerando localização central. Em relação a comparação das curvas gaussianas, destacam-se como atribuídos melhores, por ordem de maior distância das curvas:

Figura 14. Curvas gaussianas de atributos das classes controle e tumor, apenas considerando a localização centro.



1. *Skewness*
2. *Kurtosis*
3. Variância da soma
4. Soma dos quadrados: variância
5. Correlação
6. Entropia da soma

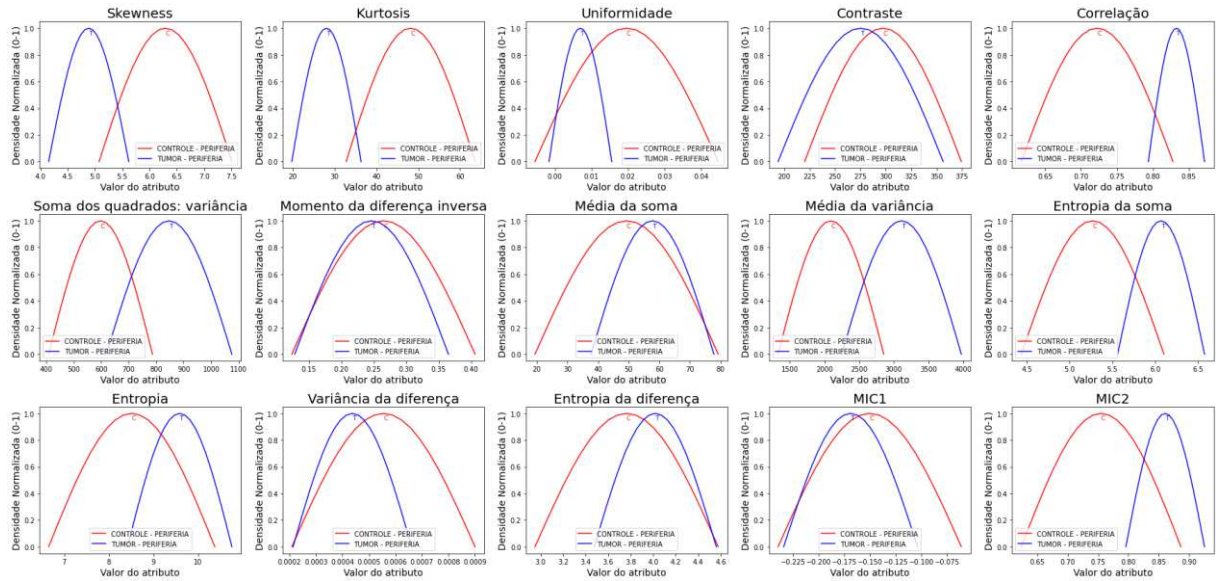
Realizando a análise das curvas através da localização “periferia”, obteve-se um resultado muito similar ao agrupamento anterior. A Figura 15, destacam-se como atributos melhores, por ordem de distância das curvas:

1. *Kurtosis*
2. Correlação
3. *Skewness*
4. Variância da soma
5. Soma dos quadrados: variância

6. Entropia da soma

7. Medida da informação de correlação 2

Figura 15. Curvas gaussianas de atributos das classes controle e tumor, apenas considerando a localização periferia.



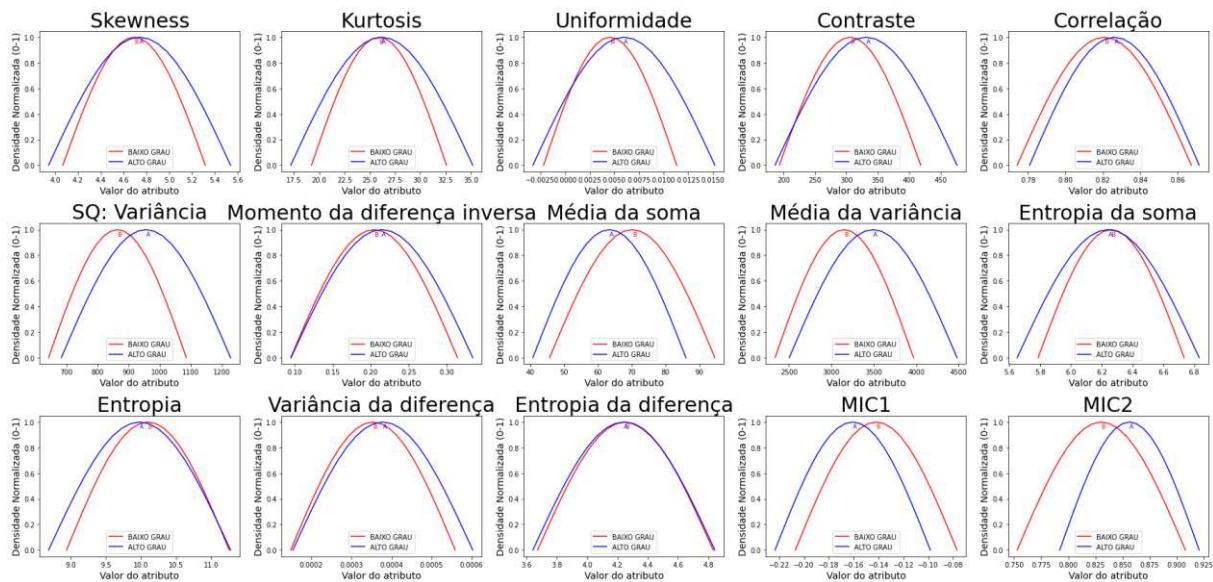
Em uma comparação geral entre os melhores atributos de textura considerando o viés de localização, há boa concordância entre aqueles que se descaram para caracterizar as imagens. Seis dos sete atributos selecionados apenas para a localização centro coincidem com os atributos escolhidos nas classes gerais e todos os sete selecionados no viés de periferia coincidiram com as classes gerais. Em relação a característica tecidual, isso revela que há semelhanças tanto entre a distribuição de colágeno no tecido saudável central ou periférico, que se apresenta no método PSR com imagem mais homogênea, maior uniformidade e com fibras mais delgadas que o tecido alterado.

7.2 Baixo grau vs. Alto grau

Prosseguindo para a análise de curvas das classes “baixo grau” e “alto grau”, inicialmente pode-se notar maior proximidade entre as curvas, em todas os atributos, o que significa que há menor distinção entre os valores quando se considera grupos “baixo grau” e “alto grau” e que pode sugerir maior dificuldade em caracterizar as imagens através dos 15 atributos de textura. A Figura 16 apresenta as curvas gaussianas da comparação entre classes citadas. Destacaram-se pela maior separação entre as curvas e consequentemente serão usadas na etapa de classificação:

1. Soma dos quadrados: variância
2. Variância da soma
3. Média da soma
4. Medida de informação da correlação 1
5. Medida de informação da correlação 2

Figura 16. Curvas gaussianas de atributos das classes baixo grau e alto grau.



Dois atributos apresentaram pequena separação entre as curvas, mas com maior área de sobreposição e não serão utilizados na classificação.

- Contraste
- Correlação

Os demais atributos considerados apresentaram total sobreposição entre curvas e não representam bons valores para caracterizarem as imagens conforme a classe considerada, sendo eles:

- *Skewness*
- *Kurtosis*
- Uniformidade
- Momento da diferença inversa
- Entropia da soma
- Entropia
- Variância da diferença
- Entropia da diferença

Observando a posição das curvas uma em relação a outra, os valores de *soma dos quadrados: variância*, *variância da soma* e *MIC1* foram mais altos em tumores de alto grau. Isto demonstra maior variação na intensidade global e maior diversidade nas somas dos pares de pixels em tumores mais agressivos.

Em contraste, *média da soma* e *MIC2* foram mais altos na classe de baixo grau, o que sugere que tumores menos agressivos mantêm relações locais mais consistentes entre os níveis de cinza. Reitera-se sobre a sobreposição notável entre as classes para a maioria das métricas, o que indica capacidade limitada de distinguir entre os tumores usando estas métricas isoladamente. Novamente, nota-se as alterações estromais ligadas a carcinogênese pela deposição de colágeno. Neste caso, os valores maiores *soma dos quadrados: variância* e *variância da soma* para a classe alto grau, sugeriu que há notáveis diferenças de intensidade nos pixels, aumentando de maneira geral seu brilho, que pode estar correlacionado a uma maior deposição de colágeno no alto grau. Por outro lado, valores mais alto de *MIC2* na classe baixo

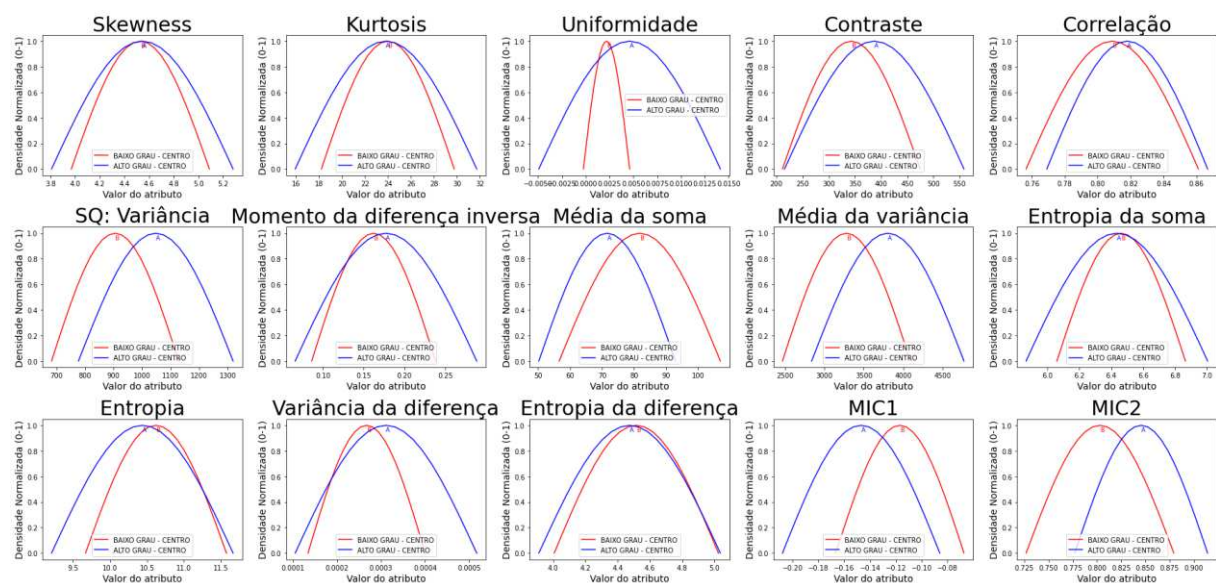
grau (medidas de dependência local mais altas). Já fibras mais densas de colágeno, podem indicar, padrões lineares localizados para o descritor *MIC1*, que apresentou valores mais altos na classe alto grau.

Considerando o viés de localização central, agora para as classes baixo e alto grau, os atributos que se destacam pela maior separação entre as curvas, apesar da sobreposição, são:

1. Soma dos quadrados: variância
2. Variância da soma
3. Média da soma
4. Medida de informação da correlação 1
5. Medida de informação da correlação 2

A Figura 17 apresenta as curvas gaussianas apenas da localização central.

Figura 17. Curvas gaussianas de atributos das classes baixo grau e alto grau, apenas considerando a localização centro.



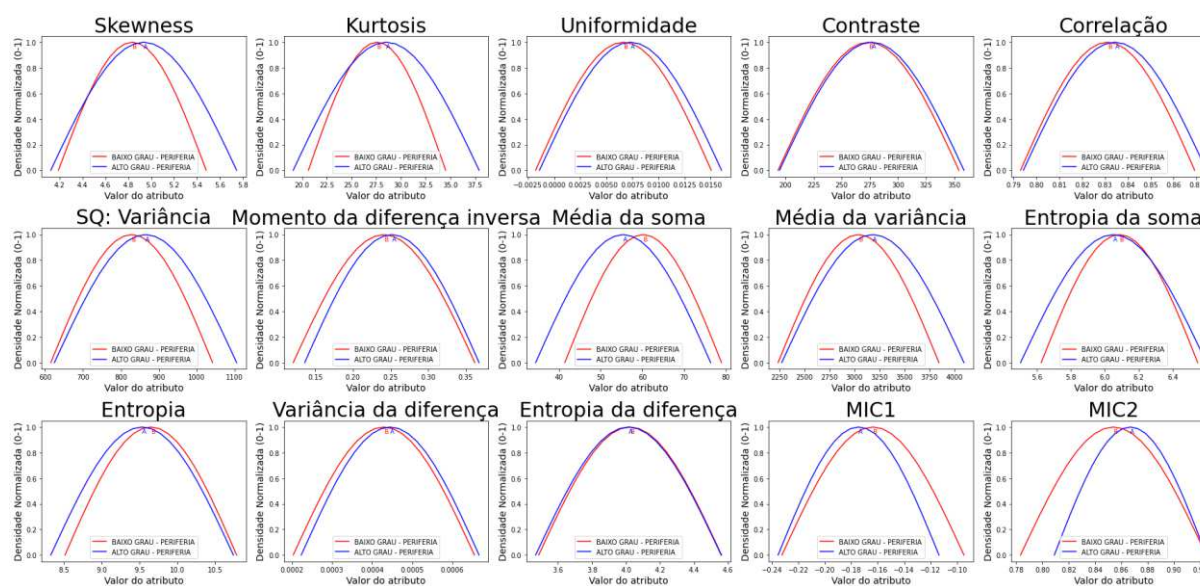
Já em relação a localização periférica, dentre todos os grupos considerados, é o que apresentou maior sobreposição de maneira geral, entre curvas. Isso também evidencia a dificuldade de separar entre casos de “baixo grau” e “alto grau” nessa região.

Não houve atributos de destaque neste grupo. Entretanto, apesar da grande sobreposição das curvas, a menor sobreposição se apresentou em:

- Soma dos quadrados: variância
- Variância da soma
- Média da soma
- Medida da informação de correlação 1
- Medida de informação de correlação 2

A Figura 18 apresenta as curvas gaussianas considerando a localização periférica das classes baixo grau e alto grau.

Figura 18. Curvas gaussianas de atributos das classes baixo grau e alto grau, apenas considerando a localização periférica.



Tanto atributos que se destacaram na localização central, quanto na periférica, coincidem com os atributos selecionados nas classes gerais, sem viés de localização. Entretanto, a sobreposição das curvas foi maior nas imagens de tecidos amostrados da periferia tumoral do que no centro, o que sugere que há maior dificuldade de diferenciação textural entre tumores

de baixo e alto grau em sua periferia. Tal achado sugere que há maior diferenciação na deposição de colágeno durante a carcinogênese no centro das lesões, do que em sua periferia. É conhecido que há grande diferença entre os microambientes de periferia e de centro (QUAIL; JOYCE, 2013). Há pouca oxigenação no centro das lesões, o que contribui para seleção de clones mais agressivos (CHOUAIB *et al.*, 2012; FACCIABENE *et al.*, 2011). A periferia apresenta maior atividade biológica, por possuir maior vascularização (DOWSETT *et al.*, 2011; KUHL, 2000). Isso sugere que o microambiente central é mais sensível às alterações associadas à agressividade tumoral, possuindo maior desorganização estrutural, mais heterogeneidade e padrões texturais característicos de tumores de alto grau, o que pode ser reflexo da baixa oxigenação do tecido e mesmo de necrose. Já a periferia tende a ser mais uniforme entre os graus, possivelmente por estar mais vascularizada e sujeita a padrões estruturais mais conservados durante a invasão. As Tabelas 12 e 13 apresentam de maneira resumida como os atributos se destacam um em relação ao outro e o que os achados sugerem.

Tabela 12. Resumo dos principais achados dos principais atributos que caracterizaram classes controle e tumor. (+) indica valores maiores na curva gaussiana e (-) indica valores menores.

Atributo	Controle	Tumor	Sugere
<i>Skewness</i>	+	—	Tecidos saudáveis: valores mais altos; não é completamente uniforme; fibras mais finas e mais uniformemente distribuídas. Tecidos tumorais: deposição de colágeno mais densa, padrão de intensidade mais equilibrado.
<i>Kurtosis</i>	+	—	Tecidos saudáveis: maior concentração de intensidades em torno da média; presença de fibras mais finas, pequenas regiões de contraste. Tumor: deposição de colágeno mais densa; distribuição mais ampla e uniforme; redução da

			concentração de valores próximos da média; valores menores de curtose.
Variância da soma	—	+	No tumor: maior variação de intensidade local; textura caótica do estroma tumoral; áreas densas de colágeno e fibras irregulares.
Soma dos quadrados: variância	—	+	No tumor: valores mais elevados; maior variação local de intensidade; textura mais caótica do estroma tumoral, regiões densas de colágeno e fibras irregulares.
Correlação	—	+	No tumor: padrões de intensidade local repetitivos; arranjo de colágeno mais denso.
Entropia da Soma	—	+	No tumor: padrão desorganizado e variado causado pela deposição de colágeno no microambiente tumoral.
MIC2	—	+	Dependência local entre os níveis de cinza pela deposição de colágeno. CMF cria padrões locais de ordem estrutural. Fibras alinhadas e aumento da densidade estromal.

Tabela 13. Resumo dos principais achados dos principais atributos que caracterizaram classes baixo grau e alto grau. (+) indica valores maiores na curva gaussiana e (-) indica valores menores.

Atributo	Baixo grau	Alto grau	Sugere
Soma dos quadrados: variância	—	+	No alto grau: maior variação na intensidade global; maior brilho causado pela birrefringência do colágeno em maior quantidade.

Variância da soma	—	+	No alto grau: maior variação na intensidade global.
Média da soma	+	—	No baixo grau: relações locais consistentes; mais uniformidade.
MIC1	—	+	No alto grau: padrões lineares localizados; fibras mais densas de colágeno.
MIC2	+	—	No baixo grau: maior variação na intensidade global.

Antes de iniciar o processo de classificação, é possível gerar modelos genéricos nos algoritmos RF e XGB para compreender como a importância dos atributos impactam nesses modelos e comparar esse resultado com o que foi definido a partir das curvas gaussianas.

Ao criar um modelo genérico para os modelos de RF e XGB, eles podem determinar a importância que os atributos entregues como variáveis para a classificação tiveram nesse processo. Esse valor pode estar entre 0 e 1, em que 1 significa a máxima importância daquele atributo na classificação e 0 significa que não houve importância do atributo na classificação. Essa importância é calculada pelo método chamado *importância de características baseada na impureza*, também conhecido como *Média da Diminuição da Impureza* (MDI) ou *importância de Gini*. A ideia central é medir quanto cada variável contribui para reduzir a impureza durante as divisões feitas nas árvores. Sempre que um atributo é usado para dividir um nó, ele provoca uma redução da impureza, e essa redução é atribuída a ele.

De maneira geral, o cálculo segue a ordem de: (1) treinamento do modelo baseado em RF; (2) em cada árvore, para cada nó dividido por uma variável, calcula-se a redução da impureza antes e depois da divisão; (3) essas reduções são somadas, ponderadas pelo número de amostras que passam pelo nó; (4) depois, calcula-se a média dessas reduções em todas as árvores, resultando no valor MDI da variável; (5) e por fim, os valores são normalizados.

Na interpretação, quanto maior o MDI, maior a importância da variável, pois ela foi responsável por uma redução mais significativa da impureza ao longo das árvores da floresta (CAPPELLI *et al.*, 2024).

A Figura 19 apresenta os valores de importância que os 15 atributos de textura escolhidos tiveram para os modelos para a classificação entre controle e tumor.

Figura 19. Importância dos atributos conforme MDI, para a classificação controle/tumor. (A) Modelo baseado em RF; (B) Modelo baseado em XGB.

(A) Importância da atributos para RF



(B) Importância de atributos para XGB



Considerando a importância determinada pelo modelo baseado em RF, seis dos sete atributos escolhidos através de curvas gaussianas coincidem com os sete principais atributos definidas pelo MDI. Eles representam 0,8344 do que seria considerado pela RF caso utilizasse os 15 atributos na classificação. Esse é um bom resultado, pois os sete atributos que foram definidos pelas curvas significam mais de 80% da importância do modelo RF, enquanto as demais oito significam apenas 20% da importância na classificação e que de fato podem ser desconsiderados para a classificação, removendo redundâncias nos dados para o modelo baseado em RF.

Já em relação a importância atribuída pelo algoritmo baseado em *XGBoost*, seis dos sete atributos escolhidos pelas curvas gaussianas são os principais importantes para este modelo, e ao total, os sete representam 0,9113 do que seria considerado pelo *XGBoost* caso tivesse utilizado todos os 15 atributos. Também é um excelente para este modelo, pois os sete atributos escolhidos significam mais de 90% do que ele está considerando como importante para a classificação, enquanto que os demais oito representam menos que 10% da importância e que de fato podem ser removidos dos dados, retirando redundâncias.

Em relação a comparação de importância dos modelos para a classificação entre baixo e alto grau, o método baseado em RF distribui melhor o uso dos atributos na classificação. Entende-se que a maior complexidade dessa classificação devido a maior semelhança entre as imagens faz com que quanto mais informação houver de atributos de textura dela, melhor será para alcançar o objetivo necessário. Quatro dos cinco atributos principais visualizados no gráfico também foram escolhidos no método curvas gaussianas. Entretanto, os cinco principais significam apenas 0,3160 da importância total atribuídas aos atributos.

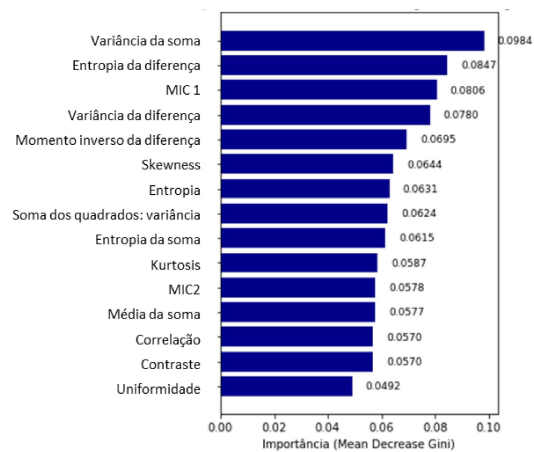
O mesmo ocorre no caso do XGB. Há maior distribuição na importância dos atributos, quando comparado com a classificação entre controle e tumor. Aqui, apenas dois dos cinco atributos selecionados nas curvas gaussianas estão entre os principais mais importantes e os cinco considerados na etapa de classificação representam 35,7% da importância dos atributos para o modelo. A Figura 20 apresenta os gráficos com a importância dos atributos calculadas por cada modelo.

Figura 20. Importância dos atributos conforme MDI, para a classificação baixo grau/alto grau. (A) Modelo baseado em RF; (B) Modelo baseado em XGB.

(A) Importância da atributos para RF



(B) Importância de atributos para XGB



Capítulo 8 FIBRAS COLÁGENAS TIPO I E TIPO III E SUAS CURVAS GAUSSIANAS

Visto que o método definido para a segregação de fibras colágenas dos tipos I e III extrapola o escopo das radiômicas, ele não foi aplicado na etapa de seleção de atributos apresentada no Capítulo 7.

Entretanto, é possível realizar uma análise comparativa utilizando métodos baseados em curvas gaussianas para avaliar os valores obtidos para fibras vermelhas e verdes, conforme a contagem de pixels resultante do processamento. Assim, podem-se estabelecer comparações entre os grupos controle e tumor, bem como entre baixo grau e alto grau, permitindo uma interpretação complementar do comportamento dessas fibras nos diferentes contextos histopatológicos.

Para as considerações apresentadas neste capítulo, foram utilizados dados provenientes das mesmas imagens analisadas no capítulo anterior. A Figura 21 apresenta as curvas gaussianas geradas para os valores correspondentes às fibras dos tipos I e III nos grupos controle e tumor.

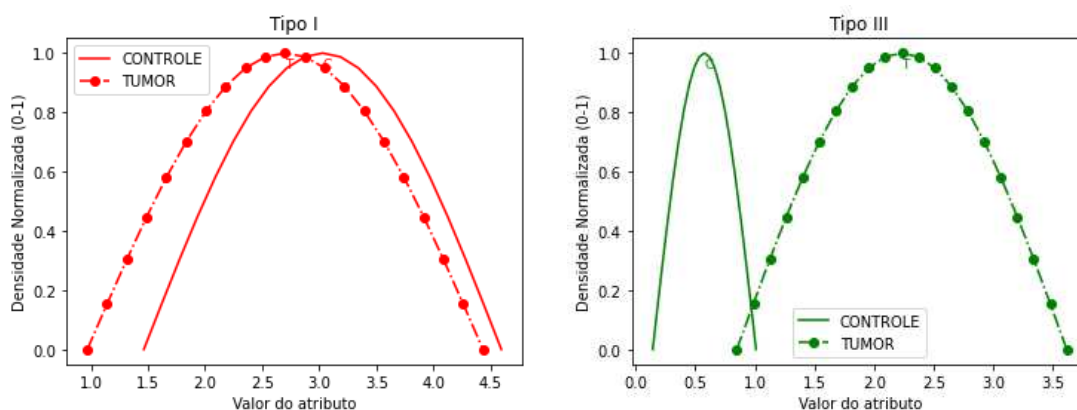
No que diz respeito ao colágeno tipo I, observa-se uma sobreposição considerável entre as curvas, com discreta tendência de valores mais altos para o grupo Controle. Tal comportamento sugere que a organização e a quantidade de colágeno tipo I são bastante semelhantes entre tecidos normais e neoplásicos, podendo inclusive ser ligeiramente reduzidas nos tecidos tumorais.

Por outro lado, para o colágeno tipo III, nota-se uma separação expressiva entre as curvas, indicando diferenças marcantes entre tecidos saudáveis e alterados. Esse achado reforça a premissa de que a deposição de colágeno tipo III aumenta nos tecidos neoplásicos quando comparados aos tecidos normais.

Dessa forma, os resultados sugerem que o colágeno tipo III apresenta potencial como medida discriminatória relevante para a classificação entre tecidos saudáveis e carcinogênicos,

ao passo que o colágeno tipo I demonstra comportamento mais uniforme entre os grupos analisados.

Figura 21. Curvas gaussianas do comparativo entre fibras colágenas do tipo I e III dos grupos controle e tumor.



A Figura 22 apresenta as curvas gaussianas geradas a partir dos valores de fibras do tipo I e III para as imagens classificadas como baixo grau e alto grau. Assim como observado nos descritores de textura, verifica-se uma maior sobreposição entre as curvas nesses grupos, reforçando a reduzida diferença textural e quantitativa entre fibras colágenas de tecidos alterados, independentemente da graduação tumoral.

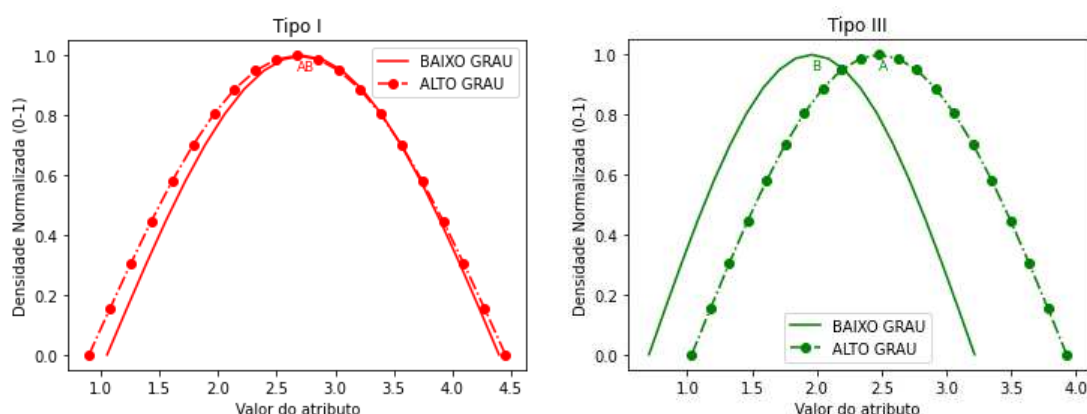
Para o colágeno tipo I, observa-se total sobreposição entre as curvas dos tumores de baixo e alto grau. Esse comportamento sugere que não há distinção mensurável na quantidade ou distribuição dessa fibra entre os diferentes graus de neoplasia, indicando estabilidade estrutural relativa do colágeno tipo I dentro do microambiente tumoral.

Por outro lado, o colágeno tipo III apresenta uma pequena, porém evidente, separação entre as curvas gaussianas. Tal separação indica que existe diferença na quantidade dessa fibra

entre tumores de baixo grau e alto grau. A tendência observada aponta para maior deposição de colágeno tipo III em tumores de alto grau, quando comparados aos de baixo grau. Esse comportamento se alinha ao entendimento de que tecidos mais agressivos frequentemente exibem remodelamento estromal mais intenso, no qual o colágeno tipo III desempenha papel relevante (PROVENZANO *et al.*, 2006; JORGE *et al.*, 2020).

Assim, embora as diferenças entre os grupos sejam sutis, os resultados sugerem que o colágeno tipo III pode atuar como um marcador mais sensível para discriminar entre tumores de baixo e alto grau, ao contrário do colágeno tipo I, cujos valores permanecem amplamente sobrepostos entre as categorias analisadas.

Figura 22. Curvas gaussianas do comparativo entre fibras colágenas dos grupos baixo grau e alto grau.



De maneira geral, o colágeno tipo III apresentou, neste estudo, maior capacidade de discriminação entre tecidos saudáveis, tumores de baixo grau e tumores de alto grau. A quantificação realizada, aliada ao método comparativo adotado para compreender as diferenças entre os grupos, indica um aumento progressivo da quantidade de colágeno tipo III ao longo da evolução tumoral: iniciando em níveis mais baixos nos tecidos saudáveis, elevando-se nos tumores bem diferenciados e atingindo seus maiores valores nos tumores pouco diferenciados. Como já foi evidenciado em tumores prostáticos de cães (CALDERON *et.al.*, 2019), houve

aumento do colágeno tipo III em tecido tumoral, quando comparado a tecido saudável. O mesmo foi notado em carcinoma de células escamosas canino (BEDOYA *et al.*, 2016).

O colágeno tipo I também demonstrou um padrão de progressão semelhante. Contudo, essa variação ocorreu de forma consideravelmente mais discreta quando comparada ao colágeno tipo III. Assim, com base nas imagens analisadas e nos métodos aplicados, o colágeno tipo III se destaca como o marcador com maior sensibilidade para capturar diferenças estruturais entre os diferentes estágios de alteração tecidual.

Capítulo 9 CLASSIFICAÇÃO DE TECIDO MAMÁRIO FELINO

Este capítulo apresenta os resultados obtidos pelos modelos treinados com os atributos selecionados no capítulo anterior, bem como uma análise das principais características associadas a cada tarefa de classificação. São detalhados o desempenho dos modelos, o comportamento das classes e os elementos que contribuíram para a discriminação entre os diferentes tipos de tecido mamário felino.

9.1 Classificação entre controle e tumor

Com base nestas definições, os valores dos sete atributos selecionados como melhores descritores das imagens de tecidos saudáveis e alterados, foram utilizados como características de entrada para os modelos de classificação entre controle/tumor, sendo eles:

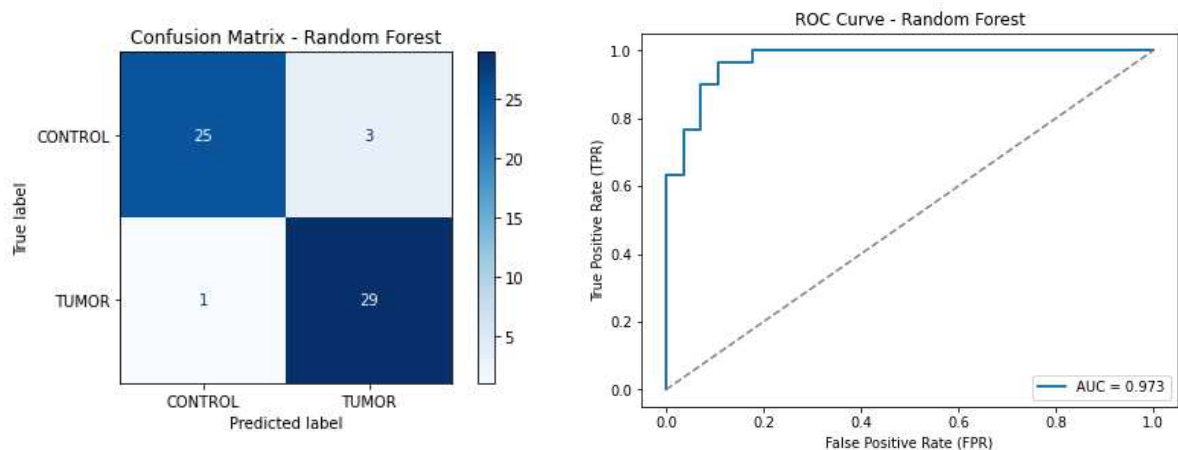
- *Skewness*
- *Kurtosis*
- Variância da soma
- Soma dos quadrados: variância
- Correlação
- Entropia da soma
- Medida da informação de correlação 2.

Foi realizado, então, o treinamento dos três modelos para classificação, RF, XGB e MLP, e realizada otimização dos seus hiperparâmetros. Os melhores resultados da classificação são apresentados a seguir.

A Figura 23 apresenta a matriz de confusão e a curva ROC para o modelo baseado em RF. Esse modelo identificou corretamente 25 das 28 amostras "controle" e 29 das 30 amostras "tumor", alcançando uma acurácia de teste de 93,1%. O valor de AUC foi de 0,973 indicando

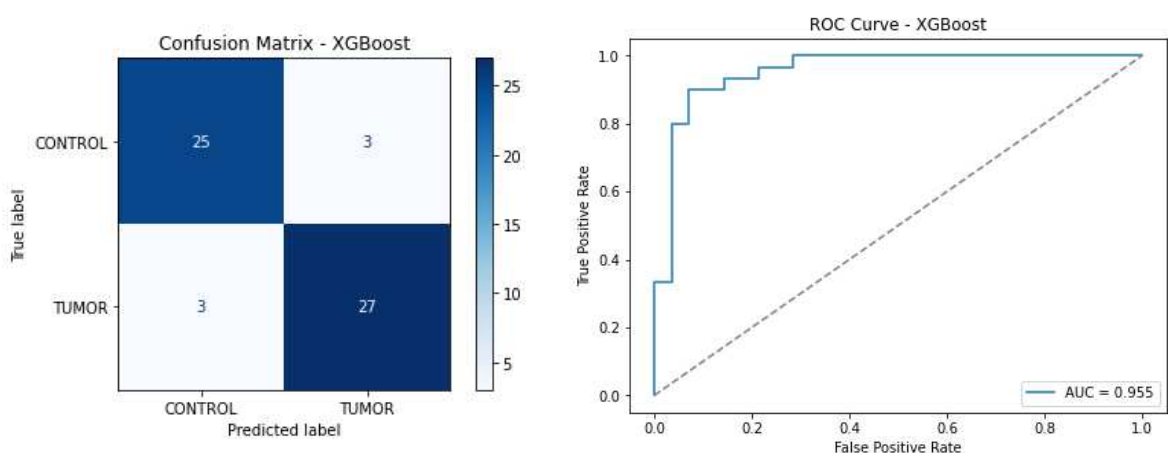
uma forte capacidade de identificar corretamente um caso positivo ou negativo selecionado aleatoriamente.

Figura 23. Matriz de confusão e Curva ROC do modelo RF treinado com sete atributos, na classificação controle/tumor.



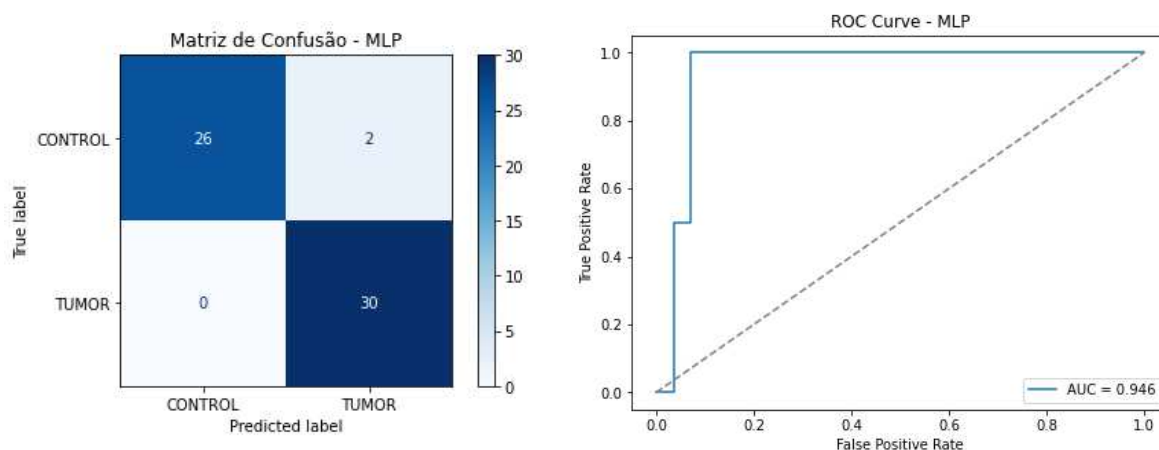
O algoritmo baseado em XGB identificou corretamente 25 das 28 amostras "controle" e 27 das 30 amostras "tumor", atingindo uma acurácia de teste de 89,7%. O valor AUC foi de 0,955, que é alto, embora tenha apresentado uma acurácia menor, comparado ao modelo RF. A Figura 24 apresenta a matriz de confusão e a curva ROC para o modelo baseado em RF.

Figura 24. Matriz de confusão e Curva ROC do modelo XGB na classificação controle/tumor.



Já o algoritmo baseado em MLP identificou corretamente 26 das 28 amostras "controle" e 30 entre as 30 amostras "tumor", alcançando uma acurácia de teste de 96,5%. O valor de AUC foi de 0,946, indicando uma forte capacidade de identificar corretamente um caso positivo ou negativo aleatório e se consolidando como o modelo com melhor resultado dentre os três considerados nesta etapa. A Figura 25 apresenta a matriz de confusão e a curva ROC para o modelo baseado em MLP.

Figura 25. Matriz de confusão e Curva ROC do modelo MLP com sete atributos na entrada, na classificação controle/tumor.

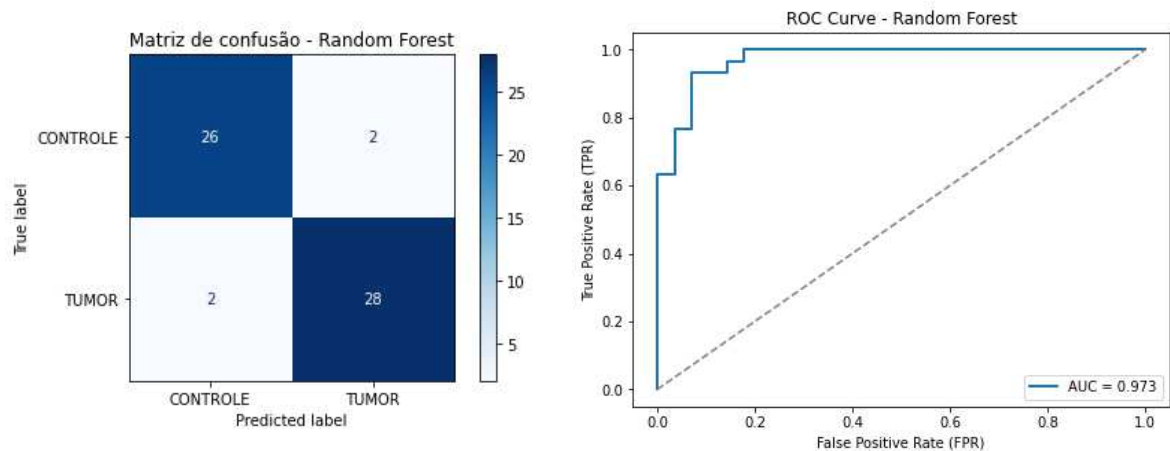


Os modelos de classificação também foram testados usando todos os 15 atributos avaliados neste trabalho, em vias de se comparar a eficiência da seleção dos atributos mais importantes na caracterização das imagens.

A Figura 26 apresenta a matriz de confusão e a curva ROC para o modelo baseado em RF, treinado com os 15 atributos. Esse modelo identificou corretamente 26 das 28 amostras "controle" e 28 das 30 amostras "tumor", alcançando uma acurácia de teste de 93,1%. O valor de AUC foi de 0,973. Em comparação ao resultado apresentado com o uso de sete atributos na

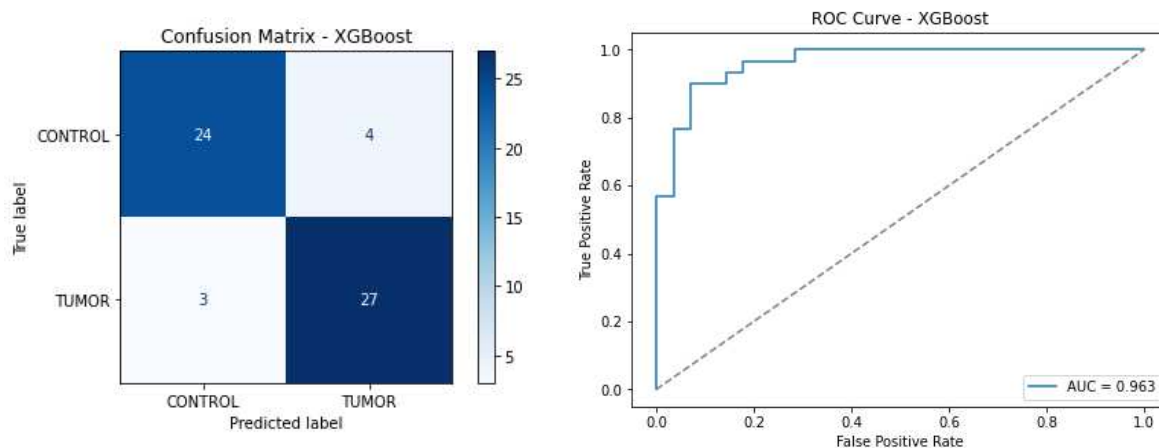
classificação, não houve variação significativa na acurácia ou valor AUC, o que confirma que para este modelo, o uso dos sete atributos é suficiente para classificar entre imagens de tecido saudável e alterado.

Figura 26. Matriz de confusão e Curva ROC do modelo RF treinado com 15 atributos, na classificação controle/tumor.



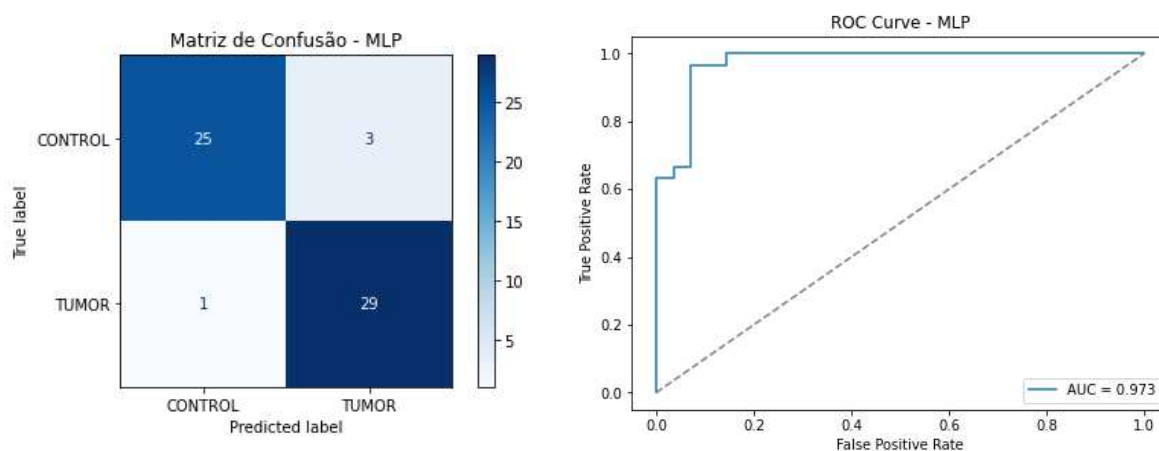
O algoritmo baseado em XGB treinado com os 15 atributos identificou corretamente 24 das 28 amostras "controle" e 27 das 30 amostras "tumor", atingindo uma acurácia de teste de 87,9%. O valor AUC foi de 0,963. Com o uso dos 15 atributos no treinamento deste modelo, não houve variações significativas nos resultados, o que confirma que os sete atributos selecionados por curvas gaussianas foram suficientes para o treinamento deste modelo. A Figura 24 apresenta a matriz de confusão e a curva ROC para o modelo baseado em XBG, treinado com os 15 atributos.

Figura 27. Matriz de confusão e Curva ROC do modelo XGB treinado com 15 atributos, na classificação controle/tumor.



Já o algoritmo baseado em MLP, treinada com os 15 atributos, identificou corretamente 25 das 28 amostras "controle" e 29 entre as 30 amostras "tumor", alcançando uma acurácia de teste de 93,1%. O valor de AUC foi de 0,958. Para este modelo, o valor de acurácia foi menor que A Figura 27 apresenta a matriz de confusão e a curva ROC para o modelo baseado em MLP, com 15 atributos.

Figura 28. Matriz de confusão e Curva ROC do modelo MLP treinado com 15 atributos, na classificação controle/tumor.



De maneira geral, todos os modelos demonstraram capacidade (AUC acima de 0.90) de distinguir entre as classes "controle" e "tumor". O modelo MLP obteve a maior acurácia de teste (96,4%) e foi o único a classificar corretamente todas as amostras de "tumor". Os modelos RF e XGB obtiveram o melhor AUC que MLP, indicando que, em termos de discriminação geral, eles são ligeiramente mais capazes a identificar corretamente uma nova amostra, apesar das acurácias de teste terem sido menores que do modelo MLP. A Tabela 14 apresenta um resumo dos resultados alcançados pelos modelos na classificação controle/tumor.

Tabela 14. Comparativo dos resultados finais da classificação controle/tumor, com o uso de sete e 15 atributos.

Atributos treinamento	Modelo	VP	FP	VN	FN	Acc (%)	AUC
7	RF	25	3	29	1	93,1	0,973
	XGB	25	3	27	3	89,7	0,955
	MLP	26	2	30	0	96.4	0,946
15	RF	26	2	28	2	93,1	0,973
	XGB	24	4	27	3	87,9	0,963
	MLP	25	3	29	1	93,1	0,973

Em relação a otimização dos hiperparâmetros dos modelos, a Tabela 15 apresenta o resultado dos valores de hiperparâmetros que desempenharam melhores valores de acurácia durante os treinamentos.

Tabela 15. Resultado da otimização dos hiperparâmetros na classificação entre controle e tumor.

RF		XGB		MLP	
Hiperparâmetro	Melhor valor	Hiperparâmetro	Melhor valor	Hiperparâmetro	Melhor valor
<i>n_estimators</i>	200	<i>n_estimators</i>	400	<i>learning_rate</i>	0,001
<i>max_depth</i>	20	<i>learning_rate</i>	0,01	<i>units_1</i>	4
<i>min_samples_split</i>	2	<i>max_depth</i>	8	<i>use_second_layer</i>	True
		<i>colsample_bytree</i>	0,7	<i>units_2</i>	2
		<i>subsample</i>	0,7		

9.2 Classificação entre baixo grau e alto grau

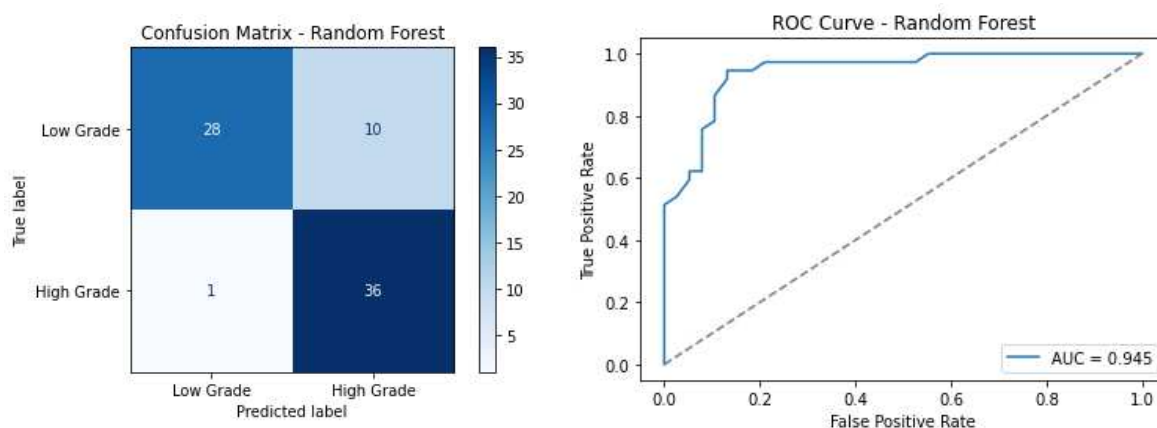
Os mesmos modelos de classificação controle/tumor foram aplicados para a classificação baixo grau/alto grau. Dessa vez, com o uso de cinco atributos selecionados anteriormente para essa classificação, através da comparação de suas curvas gaussianas, sendo eles:

- Soma dos quadrados: variância;
- Variância da soma;
- Média da soma;
- Medida de informação da correlação 1;
- Medida de informação da correlação 2;

Novamente os hiperparâmetros foram otimizados com *Random Search* e a mesma faixa de valor citada na Tabela 10.

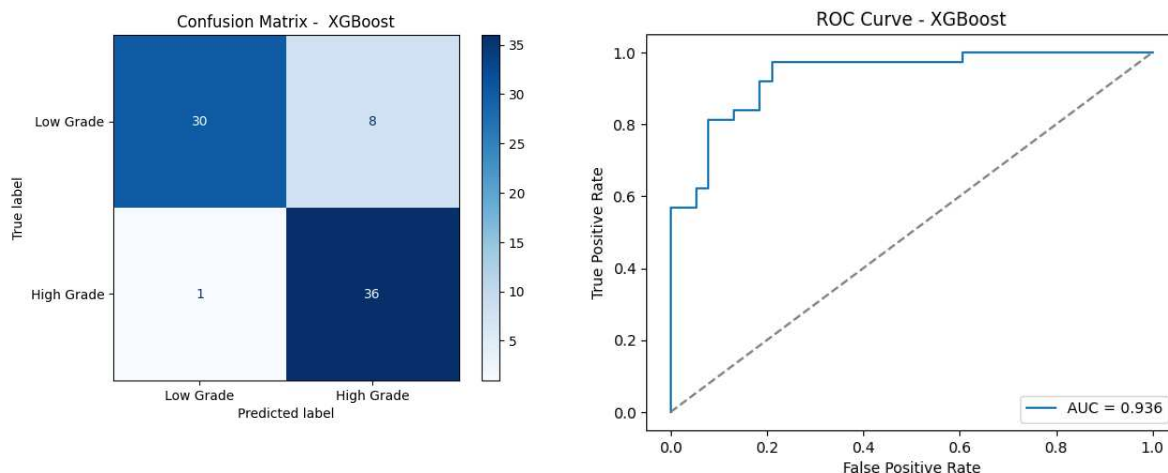
O algoritmo baseado em RF classificou corretamente 28 das 38 amostras de baixo grau e 36 das 37 amostras de alto grau, alcançando uma acurácia de teste de 85,3%. O valor AUC atingiu 0,945, indicando uma boa probabilidade de o modelo distinguir corretamente entre casos positivos e negativos aleatórios. A Figura 26 apresenta a matriz de confusão e a curva ROC para o modelo baseado em RF.

Figura 29. Matriz de confusão e Curva ROC do modelo RF na classificação baixo grau/alto grau.



O algoritmo baseado em XGB classificou corretamente 30 das 38 amostras de baixo grau e 36 das 37 amostras de alto grau, alcançando uma acurácia de teste de 88,0%. O valor de AUC atingiu 0,936, indicando uma alta probabilidade de o modelo distinguir corretamente entre casos positivos e negativos selecionados aleatoriamente. A Figura 27 apresenta a matriz de confusão e a curva ROC para o modelo baseado em XGB.

Figura 30. Matriz de confusão e Curva ROC do modelo XGB na classificação baixo grau/alto grau.



Por fim, o algoritmo baseado em MLP classificou corretamente 29 das 38 amostras de baixo grau e 24 das 37 amostras de alto grau, alcançando uma acurácia de teste de 70,7%, indicando que este modelo teve maior dificuldade em distinguir imagens de baixo grau de alto grau. O valor AUC atingiu 0,787, sugerindo uma capacidade moderada do modelo para prever corretamente casos positivos e negativos aleatórios. A Figura 28 apresenta a matriz de confusão e a curva ROC para o modelo baseado em MLP.

Os modelos de classificação também foram testados usando todos os 15 atributos, para realizar a classificação das imagens entre “baixo grau” e “alto grau”.

O algoritmo baseado em RF, treinado com os 15 atributos classificou corretamente 32 das 38 amostras de baixo grau e 33 das 37 amostras de alto grau, alcançando uma acurácia de teste de 86,7%. O valor AUC atingiu 0,955. Tais resultados apresentaram um leve incremento na capacidade de classificação deste modelo. Entretanto, precisou de mais 10 atributos para um incremento de acurácia de 1.4 % e 0,011 de AUC. A Figura 29 apresenta a matriz de confusão e a curva ROC para o modelo baseado em RF, com 15 atributos.

Figura 31. Matriz de confusão e Curva ROC do modelo MLP na classificação baixo grau/alto grau.

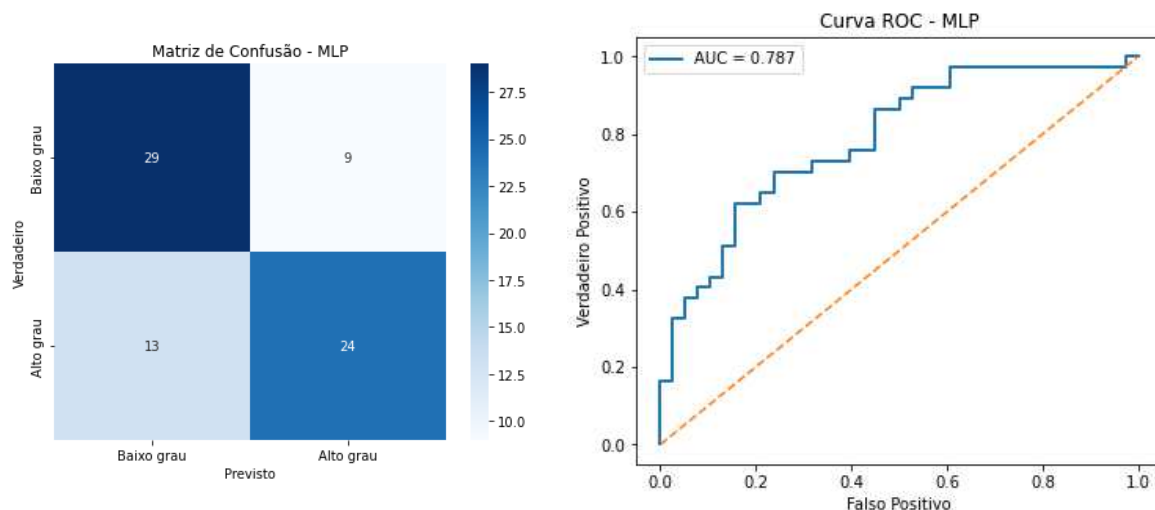
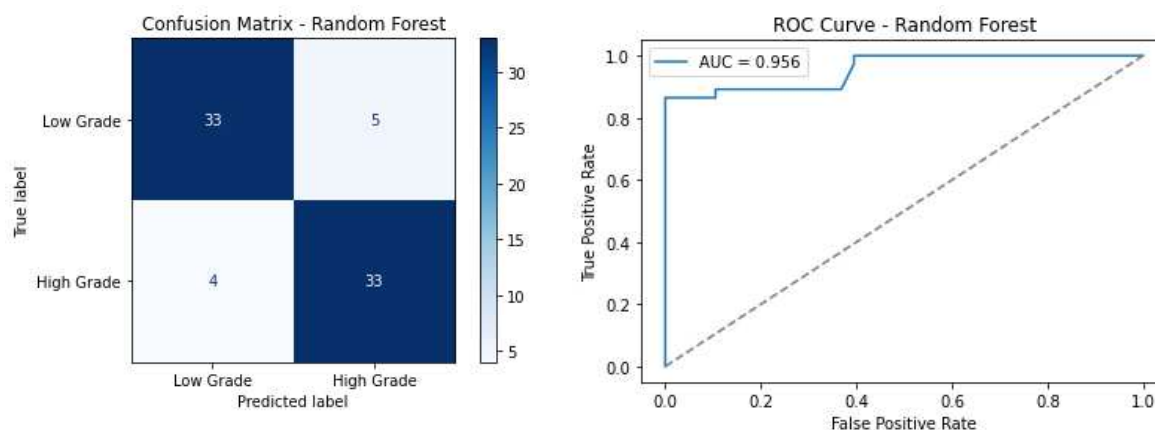


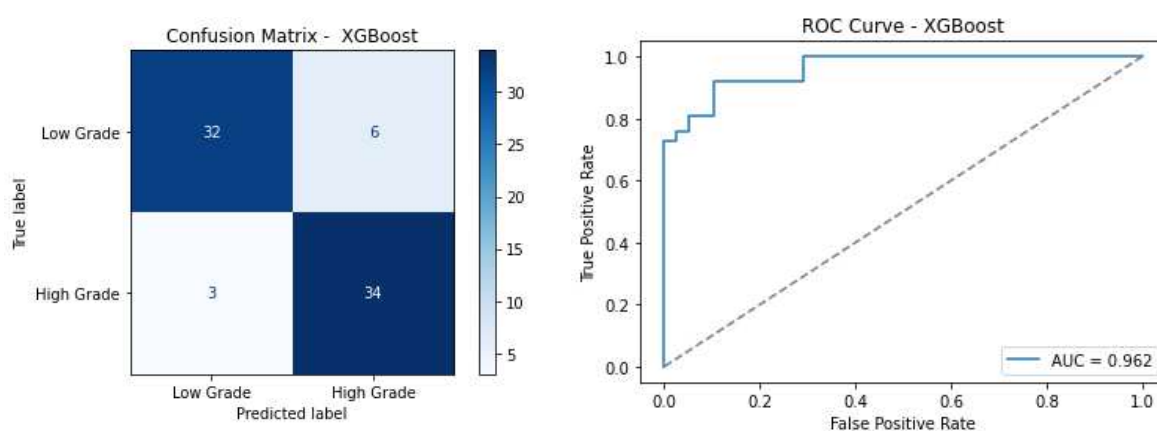
Figura 32. Matriz de confusão e Curva ROC do modelo RF, treinado com 15 atributos, na classificação baixo grau/alto grau.



O algoritmo baseado em XGB, treinado com 15 atributos, classificou corretamente 32 das 38 amostras de baixo grau e 34 das 37 amostras de alto grau, alcançando uma acurácia de teste de 88,0%. O valor de AUC atingiu 0,962. Os resultados mantiveram-se constantes, mediante ao uso dos 15 atributos, em comparação ao uso de apenas 5, o que leva a crer que não houve incremento no processo de classificação com o aumento de 10 atributos nos dados apresentados

ao modelo. A Figura 30 apresenta a matriz de confusão e a curva ROC para o modelo baseado em XGB, treinado com 15 atributos.

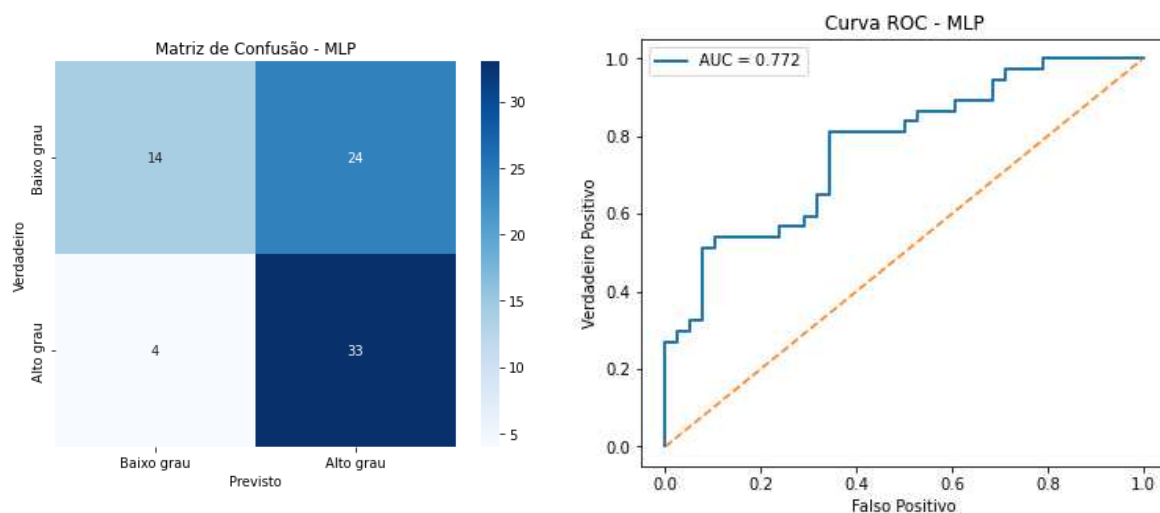
Figura 33. Matriz de confusão e Curva ROC do modelo XGB, treinado com 15 atributos, na classificação baixo grau/alto grau.



Por fim, o algoritmo baseado em MLP, com 15 atributos classificou corretamente apenas 14 das 38 amostras de baixo grau e 33 das 37 amostras de alto grau, alcançando uma acurácia de teste de 62,7%, indicando que este modelo teve maior dificuldade em distinguir imagens de baixo grau de alto grau, com forte viés para o grupo alto grau. O valor AUC atingiu 0,772 e esses resultados tiveram decremento em relação ao MLP treinado com cinco atributos.

No caso deste algoritmo, mais variáveis foi redundante para a generalização do modelo, o que ocasionou piora nos resultados, quando comparado com o uso de 5 atributos na camada de entrada. Ainda, realizar outra otimização na arquitetura do modelo pode trazer resultados melhores. A Figura 31 apresenta a matriz de confusão e a curva ROC para o modelo baseado em MLP, treinado com os 15 atributos.

Figura 34. Matriz de confusão e Curva ROC do modelo MLP, treinado com 15 atributos, na classificação baixo grau/alto grau.



A Tabela 16 apresenta o desempenho geral dos modelos desenvolvidos. O modelo XGB demonstrou o melhor desempenho nesta tarefa de classificação, dado a sua maior acurácia de teste, maior número de previsões corretas e maior valor AUC em comparação com os modelos RF e MLP. Diferente da primeira classificação, na segunda, o modelo XGB se destacou na distinção entre os graus de agressividade tumoral de CMF.

Tabela 16. Comparativo dos resultados finais da classificação baixo grau/alto grau, utilizando sete e 15 atributos no treinamento.

Atributos treinamento	Modelo	VP	FP	VN	FN	Acc (%)	AUC
5	RF	28	10	36	1	85,3	0,945
	XGB	30	8	36	1	88,0	0,936
	MLP	29	9	24	13	70,7	0,787

15	RF	33	5	33	4	86,7	0,956
	XGB	32	6	34	3	88,0	0,962
	MLP	14	34	33	4	62,7	0,772

A Tabela 17 apresenta o resultado da otimização dos hiperparâmetros de cada modelo, na classificação baixo grau/alto grau.

Tabela 17. Resultado da otimização dos hiperparâmetros na classificação entre controle e tumor.

RF		XGB		MLP	
Hiperparâmetro	Melhor valor	Hiperparâmetro	Melhor valor	Hiperparâmetro	Melhor valor
<i>n_estimators</i>	200	<i>n_estimators</i>	400	<i>learning_rate</i>	0,004
<i>max_depth</i>	20	<i>learning_rate</i>	0,01	<i>units_1</i>	8
<i>min_samples_split</i>	2	<i>max_depth</i>	8	<i>use_second_layer</i>	True
		<i>colsample_bytree</i>	0,7	<i>units_2</i>	7
		<i>subsample</i>	0,7		

Capítulo 10 CONCLUSÃO

Os métodos de classificação propostos demonstraram eficácia na diferenciação entre tecido mamário saudável e neoplásico em gatas, através da seleção de características estatísticas, descritores de Haralick e técnicas de inteligência artificial aplicadas a imagens coradas com PSR. A integração destas características permitiu uma compreensão mais abrangente da distribuição das fibras de colágeno e da heterogeneidade estrutural associada aos tecidos tumorais, o que contribuiu para o processo de classificação. As características estatísticas *skewness* e *kurtosis* contribuíram positivamente para a caracterização e classificação do tecido saudável e neoplásico, conforme previamente relatado na literatura.

Contudo, ao analisar o CMF de baixo grau e alto grau, verificou-se que a *skewness* e *kurtosis* foram insuficientes para discriminar essas categorias. Neste aspeto, alguns dos descritores de Haralick apresentaram um melhor desempenho. Estes atributos demonstraram maior sensibilidade às mudanças de textura típicas da progressão tumoral. Este fato realça a complexidade de distinguir carcinomas de alto e baixo grau, mesmo com o uso de descritores de textura.

Em relação ao uso total ou parcial dos atributos analisados neste trabalho, concluiu-se que a seleção de um subconjunto de atributos, definidos a partir da comparação entre curvas gaussianas, mostrou-se mais eficiente para a caracterização das imagens. Observou-se que a utilização dos 15 atributos originalmente levantados não produziu melhorias significativas no desempenho dos modelos de IA quando comparada ao uso de apenas sete atributos para a classificação controle/tumor e cinco atributos para a classificação baixo grau/alto grau. No caso específico dos modelos baseados em MLP, a inclusão de mais atributos resultou em pior desempenho, provavelmente devido à introdução de redundâncias no conjunto de dados.

A quantificação dos colágenos de tipos I e III pode ser realizada por meio de um método que atualiza dinamicamente o limiar responsável por separar regiões de interesse e regiões de fundo, considerando o somatório da média, do desvio padrão e da mediana de cada canal RGB da imagem. Embora os valores obtidos na quantificação das fibras colágenas não tenham sido explorados em profundidade neste trabalho, a análise por curvas gaussianas indicou uma

tendência de maior presença de fibras do tipo III (verdes) em tecidos alterados, especialmente em casos de CMFs de alto grau. Estudos adicionais são necessários para aprimorar essas hipóteses e compreender melhor a relevância desses achados.

Estes resultados reforçam o potencial da análise de textura, combinada com métodos de IA, como uma ferramenta complementar para a avaliação histopatológica e para a melhoria do diagnóstico na medicina veterinária, com potencial de uso em oncologia comparada.

Trabalhos futuros poderiam se dedicar à ampliação da aplicação de testes estatísticos mais robustos sobre os dados, capazes de compreender de maneira mais abrangente as relações entre as variáveis analisadas, como os testes ANOVA e *Kruskal–Wallis*. A compreensão da quantidade de colágeno presente nas imagens avaliadas, quantificada a partir dos resultados obtidos no Capítulo 8, poderia auxiliar na interpretação e no aprimoramento do desempenho dos métodos de inteligência artificial. Adicionalmente, a aplicação de descritores radiômicos de terceira ordem configuraria uma alternativa promissora, contribuindo para uma análise mais aprofundada das relações espaciais entre os pixels das imagens e sua associação com o estado e a graduação tumoral.

REFERÊNCIAS

- ARDAKANI, A. A.; *et al.*, U. R. Interpretation of radiomics features – A pictorial review. **Computer Methods and Programs in Biomedicine**, v. 215, p. 106609, 2022. DOI: 10.1016/j.cmpb.2021.106609.
- ALLON I. *et al.* Stromal differences in salivary gland tumors of a common histopathogenesis but with different biological behavior: A study with picrosirius red and polarizing microscopy. **Acta Histochem.** 2006;108(4):259–64.
- AMORIM, F. V. *et al.* Clinical, cytological and histopathological evaluation of mammary masses in cats from Rio de Janeiro, Brazil. **J Feline Med Surg**, v. 8, n. 6, p. 379–388, 2006.
- ANDRADÓTTIR, S. An overview of simulation optimization via random search. In: **Handbooks in Operations Research and Management Science**. Amsterdam: Elsevier, 2006. v. 13, p. 617-631.
- ANDO, T.; TSAY, R. S. Quantile regression models with factor-augmented predictors and information criterion. **The Econometrics Journal**, v. 14, p. 1-24, 2011.
- AUGSBURGER, H. R.; HENZI, D. Immunohistochemical expression of collagen types I, III, IV and α -actin in the uterine horns of nulliparous and multiparous beagles. **Theriogenology**, v. 69, n. 9, p. 1070–1076, 2008.
- BEALE, R.; JACKSON, T. **Neural Computing – an introduction**. Boca Raton: CRC Press, 1990.
- BEDOYA, S. A. O. *et al.* Caracterização de colágenos tipos I e III no estroma do carcinoma de células escamosas cutâneo em cães. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 68, p. 147-154, 2016.
- BENAZZI, C.; SARLI, G.; PREZIOSI, R.; MARCATO, P. S. Laminin expression in testicular tumours of the dog. **Journal of Comparative Pathology**, v. 112, n. 2, p. 141-150, 1995.

- BETZ, D. *et al.* Postoperative treatment outcome in canine mammary tumors. Multivariate analysis of the prognostic value of pre- and postoperatively available information. **Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere**, v. 40, n. 4, p. 235–242, 2012.
- BISHOP, C. M. **Pattern Recognition and Machine Learning**. Berlin: Springer, 2006.
- BRAGA, A. de P.; LUDERMIR, T. B.; CARVALHO, A. C. P. de L. F. de. **Redes neurais artificiais: teoria e aplicações**. Rio de Janeiro: LTC, 2007.
- BREIMAN, L. Random Forests. **Machine Learning**, v. 45, p. 5–32, 2001.
- BREIMAN, L. *et al.* **Classification and Regression Trees**. 1. ed. Boca Raton: Chapman and Hall/CRC, 1984.
- BÜRKNER, P. C.; GABRY, J.; VEHTARI, A. Efficient leave-one-out cross-validation for Bayesian non-factorized normal and Student-t models. **Comput Stat**, v. 36, p. 1243–1261, 2021.
- CALDERON, D. *et al.* Landscape of stimulation-responsive chromatin across diverse human immune cells. **Nature Genetics**, v. 51, n. 10, p. 1494–1505, out. 2019. DOI: 10.1038/s41588-019-0505-9.
- CANNON, C. M. Cats, Cancer and Comparative Oncology. **Veterinary Sciences**. 2015. p. 111–126. <https://doi.org/10.3390/vetsci2030111>
- CASSALI, G. D. *et al.* Consensus for the diagnosis, prognosis and treatment of feline mammary tumors. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 55, 2018.
- CASTAGNARO, M. *et al.* Tumour Grading and the One-year Post-surgical Prognosis in Feline Mammary Carcinomas. **Journal of Comparative Pathology**, v. 119, p. 263–275, 1998.
- CASTELLANO, G. *et al.* Texture analysis of medical images. **Clin Radiol**, v. 59, n. 12, p. 1061–1069, 2004.

CHEN, T.; GUESTRIN, C. XGBoost: A Scalable Tree Boosting System. In: **Proceedings of the 22nd ACM SIGKDD International Conference on Knowledge Discovery and Data Mining (KDD '16)**. New York: Association for Computing Machinery, 2016. p. 785–794.

CHOUAIB, S. *et al.* Hypoxia Promotes Tumor Growth in Linking Angiogenesis to Immune Escape. **Frontiers in Immunology**, v. 3, p. 21, 2012.

COSTA, G. M. *et al.* Picrosirius Red e Tricrômico de Masson como ferramentas para detecção de fibras colágenas em pele de cães com dermatopatologias endócrinas. **Medicina Veterinária – Ciência Animal Brasileira**, v. 20, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1089-6891v20e-55398>.

DA SILVA, A. M. M.; PATROCÍNIO, A. C.; SCHIABEL, H. Processamento e análise de imagens médicas. **Revista Brasileira de Física Médica (Online)**, 2019.

DE CAMPOS, C. B. *et al.* Evaluation of prognostic factors and survival rates in malignant feline mammary gland neoplasms. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 18, n. 12, p. 1003–1012, 2015.

DE LAS MULAS, J. M. *et al.* Immunohistochemical analysis of estrogen receptors in feline mammary gland benign and malignant lesions: comparison with biochemical assay. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 18, n. 1, p. 111–125, 2000.

DE WEVER, O.; MAREEL, M. Role of tissue stroma in cancer cell invasion. **J Pathol**, v. 200, n. 4, p. 429-447, 2003.

DRIFKA, C. R. *et al.* Comparison of Picrosirius Red Staining With Second Harmonic Generation Imaging for the Quantification of Clinically Relevant Collagen Fiber Features in Histopathology Samples. **Histopathology**, v. 64, n. 9, 2016.

DOWSETT, M. *et al.* Assessment of Ki67 in Breast Cancer: Recommendations from the international Ki67 in breast cancer working Group. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 103, n. 22, p. 1656–1664, 2011.

DVORAK, H. F. Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. **N Engl J Med**, v. 315, n. 26, p. 1650-1659, 1986.

ELSTON, C. W.; ELLIS, I. O. Pathological prognostic factors in breast cancer. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. **Histopathology**, v. 19, p. 403–410, 1991.

FACCIABENE, A. *et al.* Tumour hypoxia promotes tolerance and angiogenesis via CCL28 and Treg cells. **Nature**, v. 475, p. 226, 13 jul. 2011.

FISCHER, W. Digital Video Signal According to ITU-BT.R.601 (CCIR 601). In: **Digital Television**. Berlin: Springer, 2004.

FRIEDMAN, J. Greedy Function Approximation: A Gradient Boosting Machine. **Annals of Statistics**, v. 29, p. 1189-1232, 2001.

GEISSER, S.; EDDY, W. F. A Predictive Approach to Model Selection. **Journal of the American Statistical Association**, v. 74, n. 365, p. 153–160, 1979.

GILKES, D. M. *et al.* Procollagen lysyl hydroxylase 2 is essential for hypoxia-induced breast cancer metastasis. **Mol Cancer Res**, v. 11, n. 5, p. 456-466, 2013.

GOGUA, Elena. Should we recommend spaying cats for mammary tumour prevention, and if so, at what age? **Veterinary Evidence**, v. 10, 2025. DOI: 10.18849/ve.v10i3.711.

GOLDSCHMIDT, M. *et al.* Classification and Grading of Canine Mammary Tumors. **Veterinary Pathology**, v. 48, n. 1, p. 117–131, 2011.

GONZALEZ, R. C.; WOODS, R. E. **Digital Image Processing**. 3. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2010.

GOPINATHAN, P. *et al.* Reexploring picosirius red: A review. **Indian Journal of Pathology and Oncology**, v. 7, p. 196-203, 2020.

GRAPHPAD PRISM version 10.0.0 for Windows, **GraphPad Software**, Boston, Massachusetts USA, www.graphpad.com.

GUNASINGHE, N. P. A. D. *et al.* Mesenchymal-epithelial transition (MET) as a mechanism for metastatic colonisation in breast cancer. **Cancer and Metastasis Reviews**, v. 31, n. 3–4, p. 469–478, 2012.

HAHN, K. A.; BRAVO, L.; AVENELL, J. S. Feline breast carcinoma as a pathologic and therapeutic model for human breast cancer. **In vivo (Athens, Greece)**, v. 8, n. 5, p. 825–828, 1994.

HALL, M. Correlation-based feature selection for discrete and numeric class machine learning. In: **PROCEEDINGS OF THE SEVENTEENTH INTERNATIONAL CONFERENCE ON MACHINE LEARNING**. [S.l.]: Morgan Kaufmann Publishers Inc., 2000. p. 359-366.

HAN, J.; KAMBER, M.; PEI, J. **Data Mining: Concepts and Techniques**. 3. ed. Waltham: Morgan Kaufmann, 2012.

HARALICK, R. M.; SHANMUGAM, K.; DINSTEN, I. Textural Features for Image Classification. **IEEE Trans Syst Man Cybern**, v. SMC-3, n. 6, p. 610–621, 1973.

HASTIE, T.; TIBSHIRANI, R.; FRIEDMAN, J. **The Elements of Statistical Learning: Data Mining, Inference, and Prediction**. 2. ed. New York: Springer, 2009.

HAYKIN, S. S. Neural networks and learning machines. **Pearson**, 2009. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=KCwWOAAACAAJ>. Acesso em: 30 out. 2025.

HEATON, J. B. Ian Goodfellow, Yoshua Bengio, and Aaron Courville: Deep learning: The MIT Press, 2016, 800 pp, ISBN: 0262035618. **Genetic Programming and Evolvable Machines**, v. 19, 2017.

HEATON, J. B.; POLSON, N. G.; WITTE, J. H. Deep learning for finance: deep portfolios. **Appl. Stochastic Models Bus. Ind.**, v. 33, p. 3–12, 2017.

HERTZ, J.; KROGH, A.; PALMER, R. G. Introduction to the theory of neural computation. **Basic Books**, 1991.

HOETING, J. *et al.* Correction to: "Bayesian model averaging: a tutorial" [Statist. Sci. 14 (1999), no. 4, 382--417; MR 2001a:62033]. **Statistical Science**, v. 15, 2000.

HORNIK, K. Approximation capabilities of multilayer feedforward networks. **Neural Networks**, v. 4, n. 2, p. 251-257, 1991.

HUGHES, K.; DOBSON, J. M. Prognostic histopathological and molecular markers in feline mammary neoplasia. **Veterinary Journal**, v. 194, n. 1, p. 19–26, 2012.

JAIN, A. K. Data clustering: 50 years beyond K-means. **Pattern Recognition Letters**, v. 31, n. 8, p. 651-666, 2010.

JORGE, M. F. *et al.* Quantification of the collagen fibers of healthy and neoplastic mammary tissue in cats by the Picrosirius Red histochemical method. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, v. 14, p. 18-23, 2021.

JUNQUEIRA, L. C.; MONTES, G. S.; SANCHEZ, E. M. The influence of tissue section thickness on the study of collagen by the Picrosirius-polarization method. **Histochemistry**, v. 74, n. 1, p. 153–156, 1982.

JUNQUEIRA, L.C., *et al.* Dermal collagen distribution: a histochemical and ultrastructural study. **Histochem.** 1983;79:397–403.

JUNQUEIRA, L.C.U. *et al.* Differential histologic diagnosis of osteoid. A study on human osteosarcoma collagen by the histochemical picrosirius-polarization method. **J Pathol.** 1986;148(2):189–96.

JÚNIOR, A.; FAGUNDES, R. Aplicação de Técnicas de Otimização de Hiperparâmetros em Modelos de Machine Learning na Tarefa de Classificar Bons e Maus Clientes. In: **[Título do Evento]**. [S.l.]: [s.n.], 2023. p. 1-8.

KOTSIANTIS, S. B.; ZAHARAKIS, I.; PINTELAS, P. Supervised machine learning: A review of classification techniques. In: **Emerging artificial intelligence applications in computer engineering**. [S.l.: s.n.], 2007. v. 160, p. 3–24.

KOVÁCS, Z. L. Redes neurais artificiais. São Paulo. **Livraria da Física**, 2002.

KOREN R. *et al.* Capsular collagen staining of follicular thyroid neoplasms by picrosirius red: role in differential diagnosis. **Acta Histochem**. 2001;103(2):151–7.

KUHL, C. K. Review article MRI of breast tumors. **European Journal of Radiology**, v. 58, p. 46–58, 2000.

LANA, S. E.; RUTTEMAN, G. R.; WITHOROW, S. J. Tumors of the mammary gland. In: WITHROW, S. J.; MACEWEN, E. G. **Withrow e MacEwen's Small Animal Clinical Oncology**. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 2007. p. 619–636.

LIAW, A.; WIENER, M. Classification and Regression by RandomForest. **R News**, v. 23, 2001.

LIMA, I. C. de *et al.* Quantificação de colágeno tipos I e III em lesões de pele de pacientes portadores de hanseníase. **Rev Pan-Amaz Saude**, v. 11, e202000259, 2020.

LIN, Z. Q. *et al.* Essential involvement of IL-6 in the skin wound-healing process as evidenced by delayed wound healing in IL-6-deficient mice. **J Leukoc Biol**, v. 73, n. 6, p. 713–721, 2003.

LIPTON, A. *et al.* High turnover of extracellular matrix reflected by specific protein fragments measured in serum is associated with poor outcomes in two metastatic breast cancer cohorts. **International Journal of Cancer**, v. 143, n. 11, p. 3027–3034, 2018.

LOKATE, M. *et al.* Age-related Changes in Mammographic Density and Breast Cancer Risk. **American Journal of Epidemiology**, v. 178, n. 1, p. 101–109, 2013.

MARIA, R. DE *et al.* Spontaneous Feline Mammary Carcinoma Is a Model of HER2 Overexpressing Poor Prognosis Human Breast Cancer. **Cancer Research**, v. 65, n. 3, p. 907–912, 2005.

MARQUES, C. S. *et al.* Serum SDF-1 levels are a reliable diagnostic marker of feline mammary carcinoma, discriminating HER2-overexpressing tumors from other subtypes. **Oncotarget**, v. 8, n. 62, p. 105775–105789, 2017.

MARQUES, C. S. *et al.* CXCR4 and its ligand CXCL12 display opposite expression profiles in feline mammary metastatic disease, with the exception of HER2-overexpressing tumors. **BMC cancer**, v. 18, n. 1, p. 741, 2018.

MATOS, A. J. F. *et al.* Prognostic studies of canine and feline mammary tumours: The need for standardized procedures. **Veterinary Journal**, v. 193, n. 1, p. 24–31, 2012.

MILLS, S. W. *et al.* Prognostic Value of Histologic Grading for Feline Mammary Carcinoma: A Retrospective Survival Analysis. **Veterinary Pathology**, v. 52, n. 2, p. 238–249, 2015.

MISDORP, W. Tumors of the Mammary Gland. In: DALEK, V. (Ed.). **Tumors in Domestic Animals**. Ames, Iowa: Iowa State Press, 2008. p. 575–606.

MISDORP, W. *et al.* **Histological Classification of Mammary Tumors of the Dog and the Cat**. [S.l.]: Armed Forces Institute of Pathology, 1999.

MITTAL, A.; PATIDAR, S. Sentiment analysis on twitter data: A survey. In: **PROCEEDINGS OF THE 2019 7TH INTERNATIONAL CONFERENCE ON COMPUTER AND COMMUNICATIONS MANAGEMENT, ICCCM 2019**. New York: ACM, 2019. p. 91–95.

MONARD, M. C.; BARANAUSKAS, J. A. Conceitos de aprendizado de máquina. In: REZENDE, S. O. (Ed.). **Sistemas Inteligentes - Fundamentos e Aplicações**. São Paulo: **Editora Manole**, 2003. p. 89–114.

MONTES, G. S.; JUNQUEIRA, L. C. The use of the Picrosirius-polarization method for the study of the biopathology of collagen. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, p. 582–586, 1996.

MONTES, G. S. *et al.* Histochemical and morphological characterization of reticular fibers. **Histochemistry**, v. 65, n. 2, p. 131–141, 1980.

MORRIS, J. Mammary Tumours in the Cat: Size matters, so early intervention saves lives. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 15, n. 5, p. 391–400, 2013.

MUELLER, J. P.; MASSARON, L. Aprendizado de Máquina Para Leigos. Rio de Janeiro: **Alta Books**, 2019.

MUNSON, L.; MORESCO, A. Comparative Pathology of Mammary Gland Cancers in Domestic and Wild Animals. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 28, p. 7–21, 2007.

NYSAKA A, DAYAN D. Ameloblastic fibroma in a young cat. **J Oral Pathol Med**. 1995;24:233–6.

NOCEDAL, J.; WRIGHT, S. J. **Numerical Optimization**. 2. ed. Berlin: Springer-Verlag, 2006.

OVERLEY, B. *et al.* Association between ovariectomy and feline mammary carcinoma. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 19, n. 4, p. 560–563, 2005.

ROVENZANO, P. P. *et al.* Collagen reorganization at the tumor-stromal interface facilitates local invasion. **BMC Medicine**, v. 4, p. 38, 2006.

QUAIL, D. F.; JOYCE, J. A. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis. **Nature Medicine**, v. 19, p. 1423, 2013.

RABAU, M.Y., DAYAN D. Polarization microscopy of picrosirius red stained sections: a useful method for qualitative evaluation of intestinal wall collagen. **Histol Histopathol**. 1994;9:525–533.

RIQUETI, G.; RIBEIRO, C. E.; ZÁRATE, L. Classificando perfis de longevidade de bases de dados longitudinais usando Floresta Aleatória. In: **ANAIS DO SYMPOSIUM ON KNOWLEDGE DISCOVERY, MINING AND LEARNING (KDMiLe)**, [S.l.], 2018.

RODRIGUES, E. F. **Aprendizagem estatística para recuperação da informação**. 2008. 63 f. Dissertação (Mestrado em Informática) .

ROSENBLATT, F. The perceptron: A probabilistic model for information storage and organization in the brain. **Psychological Review**, v. 65, n. 6, p. 386–408, 1958.

RUMELHART, D. E.; HINTON, G. E.; WILLIAMS, R. J. Learning internal representations by error propagation. **Parallel Distributed Processing**, v. 1, p. 318–362, 1986.

RUTTEMAN, G. R.; WITHROW, S. J.; MACEWEN, E. G. Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology, 5th Edition. In: RUTTEMAN, G. R.; WITHROW, S. J.; MACEWEN, E. G. **Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology**. 5. ed. New York: WB Saunders, 2013. p. 547–556.

SCIBELLI, A. *et al.* Expression levels of the focal adhesion-associated proteins paxillin and p130^{CAS} in canine and feline mammary tumors. **Vet. Res.**, v. 34, n. 2, p. 193–202, 2003.

SEIXAS, F. *et al.* Grade is an independent prognostic factor for feline mammary carcinomas: A clinicopathological and survival analysis. **Veterinary Journal**, v. 187, n. 1, p. 65–71, 2011.

SOARES, M. *et al.* Molecular based subtyping of feline mammary carcinomas and clinicopathological characterization. **Breast**, v. 27, p. 44–51, 2016a.

SORENMO, K. U.; WORLEY, D. R.; GOLDSCHMIDT, M. H. Tumors of the Mammary Gland. In: WITHROW, S. J. *et al.* **Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology**. 5. ed. Saint Louis: W.B. Saunders, 2013. p. 538–556.

SWEAT, F.; PUCHTLER, H.; ROSENTHAL, S. I. Sirius red F3BA as a stain for connective tissue. **Arch. Pathol. Lab. Med.**, v. 78, p. 69-72, 1964.

TAMAMOTO, T. *et al.* Serum Amyloid A Promotes Invasion of Feline Mammary Carcinoma Cells. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 76, n. 8, p. 1183–1188, 2014.

TEKGUL, S. *et al.* Collagen Types I and III Localization by In Situ Hybridization and Immunohistochemistry in the Partially Obstructed Young Rabbit Bladder. **The Journal of Urology**, v. 156, n. 2, Supplement, [1996].

THAKARE, S.; SIRSAT, S. R. Review of market, prediction using sentiment and opinion mining. **International Journal of Electronics, Communication and Soft Computing Science & Engineering (IJECSCE)**, p. 115, 2015.

VARGHESE SS *et al.* Evaluation and Comparison of the Biopathology of Collagen and Inflammation in the Extracellular Matrix of Oral Epithelial Dysplasias and Inflammatory Fibrous Hyperplasia Using Picrosirius Red Stain and Polarising Microscopy: A Preliminary Study. **J Cancer Prev.** 2015;20(4):275–80.

VEHTARI, A.; OJANEN, J. Errata: A survey of Bayesian predictive methods for model assessment, selection and comparison. **Statistics Surveys**, v. 8, 2014.

WEBB, G. *et al.* Leave-One-Out Cross-Validation. In: **Encyclopedia of Machine Learning**. [S.l.: s.n.], 2010.

WEGNER, K. A. *et al.* Fluorescence of Picrosirius Red Multiplexed With Immunohistochemistry for the Quantitative Assessment of Collagen in Tissue Sections. **Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, v. 65, n. 8, 2017.

WINTERS, S. *et al.* Chapter One - Breast Cancer Epidemiology, Prevention, and Screening. In: LAKSHMANASWAMY, R. (Ed.). **Approaches to Understanding Breast Cancer**. [S.l.]: Academic Press, 2017. v. 151, p. 1–32.

WITTEN, I. H.; FRANK, E. **Data mining: Practical machine learning tools and techniques**. 2. ed. Burlington: Morgan Kaufmann Publisher, 2005.

WHITTAKER P, *et al.*. Quantitative assessment of myocardial collagen with picosirius red staining and circularly polarized light. **Basic Res Cardiol** . 1994;89(5):397–410.

XIONG, X. *et al.* PCR-DGGE analysis of the microbial communities in three different Chinese “Baiyunbian” liquor fermentation starters. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 24, n. 8, p. 1088-1095, 2014.

ZAPPULLI, V. *et al.* Feline mammary tumours in comparative oncology. **Journal of Dairy Research**, v. 72, n. SPEC. ISS., p. 98–106, 2005.