

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS– UFSCAR  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA– CCET  
DEPARTAMENTO DE COMPUTAÇÃO– DC  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DA COMPUTAÇÃO– PPGCC

**Matheus Viana da Silva**

**Quantificação da tortuosidade de vasos  
sanguíneos: definições e influência das  
etapas de realce e segmentação**

São Carlos  
2021



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia  
Programa de Pós-Graduação em Ciência da Computação

---

**Folha de Aprovação**

---

Defesa de Dissertação de Mestrado do candidato Matheus Viana da Silva, realizada em 08/11/2021.

**Comissão Julgadora:**

Prof. Dr. Cesar Henrique Comin (UFSCar)

Prof. Dr. Ricardo José Ferrari (UFSCar)

Prof. Dr. Bruno Augusto Nassif Travençolo (UFU)

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciência da Computação.



**Matheus Viana da Silva**

**Quantificação da tortuosidade de vasos  
sanguíneos: definições e influência das  
etapas de realce e segmentação**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência da Computação do Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciência da Computação.

Área de concentração: Processamento de Imagens e Sinais

Orientador: Prof. Dr. Cesar Henrique Comin

São Carlos

2021





*Dedico esse trabalho aos meus pais, por todo o suporte e incentivo enquanto persigo meus sonhos.*



---

# Agradecimentos

---

Primeiramente agradeço a Deus, pelo dom da vida e força para seguir em frente em busca de meus sonhos.

Agradeço à minha família, pelo apoio incondicional durante meu período de pós-graduação.

Agradeço ao meu orientador, Dr. César Henrique Comin, por todo conhecimento compartilhado em nossas discussões.

Agradeço aos meus colegas de laboratório, por criar um ambiente agradável para o desenvolvimento do trabalho de pesquisa.

Agradeço aos meus bons amigos de escola, que mesmo depois de tantos anos, me oferecem suas amizades e apoio para cumprir meus objetivos.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro.



*“As dificuldades fortalecem a mente, assim como o trabalho faz com o corpo.”*  
*(Sêneca)*



---

# Resumo

---

Características morfológicas de vasos sanguíneos podem ser utilizadas como marcadores de diversas patologias que atingem os tecidos de um organismo animal. Dentre as medidas que podem ser aferidas em um vaso, a tortuosidade desempenha um papel importante no estudo e diagnóstico de distúrbios que afetam o fluxo sanguíneo. O avanço do poderio computacional e das técnicas de imageamento possibilitou a elaboração de metodologias automáticas de quantificação de tortuosidade em imagens possuindo centenas e até milhares de vasos sanguíneos. Essas metodologias usualmente necessitam das etapas de realce, segmentação e esqueletização dos vasos, sendo que cada uma destas etapas foi estudada em diversos trabalhos da literatura. Geralmente, tais trabalhos ignoram a influência que a tortuosidade dos vasos possui na qualidade do resultado. Em particular, muitos dos algoritmos desenvolvidos não são focados no processamento de vasos sanguíneos de alta tortuosidade, que tendem a possuir alta relevância para diversas patologias. Com isso, problemas sistemáticos na quantificação da tortuosidade dos vasos (vieses) podem ocorrer, levando a conclusões errôneas a respeito dos vasos estudados. Isto posto, neste trabalho estudamos a influência que a tortuosidade possui em diversas etapas do processamento digital de imagens de vasos sanguíneos, especialmente nas etapas de realce e segmentação. Experimentos realizados com um gerador de vasos sanguíneos artificial sugerem que possíveis vieses podem ocorrer ao utilizar métodos tradicionais da literatura para realçar vasos de alta tortuosidade. Utilizando imagens reais de vasos sanguíneos da retina, detectamos indícios de que bases de dados majoritariamente compostas por vasos tortuosos afetam a qualidade de segmentação por métodos de aprendizado profundo, com possível superestimação do valor médio de tortuosidade. Os experimentos com aprendizado profundo foram expandidos com uma extensa base de dados de microscopia confocal do córtex de camundongos, e foram encontrados possíveis vieses que podem ocorrer ao utilizar redes pré-treinadas para a morfometria de vasos sanguíneos. Ademais, identificamos a possibilidade de mitigar parte desses vieses por meio de refinamentos com novos conjuntos de dados, ou a partir da expansão da base de treinamento por meio de transformações aplicadas ao dado original. Esperamos que as análises propostas possam levar a um aumento da precisão de valores morfométricos obtidos em pesquisas de fronteira sobre o sistema cardiovascular.

**Palavras-chave:** tortuosidade de vasos sanguíneos, morfometria de vasos sanguíneos, microscopia confocal, retinografia.





---

# Abstract

---

Morphological features of blood vessels can be used as markers of several pathologies affecting the tissues of organisms. Among these features, tortuosity displays a vital role in the study and diagnostic of conditions that affect blood flow. Advances in computational power and imaging techniques have made it possible to develop automatic methodologies for quantifying tortuosity in images with hundreds or even thousands of blood vessels. These methodologies usually involve the enhancement, segmentation, and skeletonization of blood vessels, each of which has been studied in several works in the literature. Frequently, these works ignore the influence that blood vessel tortuosity has on the quality of the result. In particular, many of the developed algorithms are not focused on processing blood vessels with high tortuosity, which tend to be relevant for several diseases. As a result, systematic problems (or biases) on quantifying blood vessel tortuosity can occur, leading to wrong conclusions regarding the studied vessels. Thus, we studied the influence that tortuosity has on different stages of digital processing of blood vessel images, especially regarding the steps of enhancement and segmentation. Experiments performed with an artificial blood vessel generator suggest that biases may occur when using traditional enhancement algorithms in vessels with high tortuosity. Using real images of blood vessels in the retina, we identified that databases mainly composed of tortuous vessels may affect the quality of segmentation by deep learning methods, with possible overestimation of the average tortuosity value of a vessel network. The experiments with deep learning were expanded with a large dataset of confocal microscopy images of the mouse cortex. We found possible biases that can occur when using pre-trained off-the-shelf networks to perform morphometric analyses of blood vessels. In addition, we identified the possibility of mitigating part of those biases by a fine-tuning step performed with new datasets, or by expanding the training dataset with transformations applied to the original data. It is expected that the proposed analyzes will lead to an improvement in the accuracy of morphometric values obtained in frontier research regarding the cardiovascular system.

**Keywords:** blood vessel tortuosity, blood vessel morphometry, confocal microscopy, retinography.



---

# Lista de ilustrações

---

Figura 2.1 – Esquema de captura de luz em um microscópio confocal. . . . .	28
Figura 2.2 – Esquema básico de uma retinografia. . . . .	29
Figura 2.3 – Representação gráfica de uma elipsoide que descreve a topologia local de um ponto. . . . .	32
Figura 2.4 – Tipos de estrutura que podem ser identificadas utilizando os autovalores da Hessiana. . . . .	33
Figura 2.5 – Possíveis descontinuidades que podem ocorrer após a aplicação do filtro de Frangi em uma imagem de vasos sanguíneos. (A) Imagem original. (B) Imagem realçada pelo filtro de Frangi: setas vermelhas indicam descontinuidades em regiões de bifurcação; a seta azul marca uma descontinuidade na intensidade causada pela tortuosidade do vaso. Figura processada em 2D. Fonte: Próprio autor. . . . .	35
Figura 2.6 – Diferença entre superfície-esqueletos e curva-esqueletos. . . . .	37
Figura 2.7 – Alguns tipos de esqueleto que podem ser definidos a partir de uma imagem binária. . . . .	39
Figura 2.8 – Vizinhança de um ponto $p \in \mathbb{Z}^3$ . . . . .	40
Figura 2.9 – Máscaras básicas para a remoção de pontos de borda-U simples. . . . .	41
Figura 2.10 – Evolução das estruturas reconhecidas por cada neurônio em uma CNN. . . . .	44
Figura 2.11 – Arquitetura U-Net. . . . .	45
Figura 2.12 – Modelo de bloco residual para redes convolucionais. . . . .	47
Figura 2.13 – Resultado da aplicação de transformações elásticas em uma imagem de vasos sanguíneos, utilizando diferentes valores de $\alpha$ . . . . .	48
Figura 3.1 – Algumas medidas simples de tortuosidade 2D que podem ser encontradas na literatura. . . . .	50
Figura 3.2 – Alguns tipos diferentes de tortuosidade que podem ser encontrados em vasos sanguíneos. . . . .	52
Figura 3.3 – Exemplificação da composicionalidade de um vaso sanguíneo. . . . .	53

Figura 3.4 – Triedro de Frenet. . . . .	54
Figura 4.1 – Método clássico de segmentação de imagens. . . . .	64
Figura 4.2 – Segmentador como um módulo à parte em uma rotina de extração de dados em imagens biológicas. . . . .	64
Figura 4.3 – Cenário hipotético de diferentes resultados para segmentadores com acurácia similar. . . . .	65
Figura 4.4 – Problemas da utilização da acurácia para caracterizar a qualidade de um extrator de atributos. . . . .	66
Figura 4.5 – Ilustração de um possível viés que pode ocorrer em uma metodologia de segmentação de vasos. . . . .	67
Figura 4.6 – Exemplos de imagens da base CORTEX. . . . .	68
Figura 4.7 – Exemplos de imagens da base DRIVE. . . . .	69
Figura 4.8 – Metodologia adotada para a geração e análise de vasos artificiais. . . . .	70
Figura 4.9 – Tensão aplicada à região de curvatura em um vaso artificial. . . . .	71
Figura 4.10–Comparação entre um vaso real da base CORTEX, e os vasos criados por nosso gerador. . . . .	72
Figura 4.11–Distribuição de intensidades nas regiões de vasos e fundo. A curva vermelha representa o KDE de cada histograma. A curva verde representa uma distribuição de Poisson que melhor descreve o histograma. . . . .	74
Figura 4.12–Ilustração do método utilizado para calcular a tortuosidade de um determinado segmento de vaso. . . . .	75
Figura 4.13–Processo de separação de vasos sanguíneos da retina nas categorias tortuoso e reto. . . . .	77
Figura 4.14–Expansão do mapa de tortuosidade até a espessura de seu vaso correspondente. . . . .	78
Figura 4.15–Modelo de avaliação do impacto do conjunto de treinamento no resultado da segmentação de vasos sanguíneos de imagens da retina. . . . .	79
Figura 4.16–Modelo de aprendizado por transferência que é usualmente utilizado para a morfometria de vasos sanguíneos. . . . .	81
Figura 4.17–Exemplo de binarização obtido pela metodologia de segmentação semi-supervisionada. . . . .	83
Figura 4.18–Metodologia de treinamento e refinamento da rede especializada em vasos retos. . . . .	84
Figura 4.19–Metodologia de treinamento e refinamento da rede especializada em vasos tortuosos. . . . .	84
Figura 5.1 – Alguns exemplos de vasos criados por nosso gerador. . . . .	90
Figura 5.2 – Exemplos da diferença na qualidade de realce do filtro de Frangi para diferentes ângulos. . . . .	90

Figura 5.3 – Mais exemplos de como o filtro de Frangi pode gerar resultados não satisfatórios em curvaturas com ângulo pequeno. . . . .	91
Figura 5.4 – Variação de intensidade nas regiões de curvatura dos vasos gerados artificialmente. . . . .	92
Figura 5.5 – Análise do esqueleto do vaso como sendo uma curva de intensidades parametrizada ao longo de sua extensão. . . . .	94
Figura 5.6 – Qualidade do realce do filtro de Frangi ao segmentar vasos com diferentes ângulos . . . . .	95
Figura 5.7 – Qualidade do realce do filtro de Frangi ao segmentar vasos com diferentes ângulos . . . . .	96
Figura 5.8 – Qualidade da segmentação dos vasos da retina ao variar o conjunto de treinamento. . . . .	98
Figura 5.9 – Tortuosidade relativa das imagens segmentadas quando comparadas ao padrão ouro. . . . .	99
Figura 5.10–Exemplos de segmentações obtidas pelas nossas redes especializadas. . . . .	99
Figura 5.11–Artefatos observados ao segmentar vasos sanguíneos usando redes treinadas com outras características de tortuosidade. . . . .	100
Figura 5.12–Desempenho da REVT ao segmentar vasos retos, à medida em que a rede passa por uma etapa de refinamento com cada vez mais vasos retos. . . . .	101
Figura 5.13–Desempenho da REVR ao segmentar vasos tortuosos, à medida em que a rede passa por uma etapa de refinamento com cada vez mais vasos tortuosos. . . . .	102
Figura 5.14–Desempenho da rede treinada com o conjunto de vasos tortuosos falsos ao realizar a morfometria de vasos tortuosos reais. . . . .	104
Figura 5.15–Desempenho da rede especializada em vasos retos ao segmentar vasos tortuosos, à medida em que a rede passa por uma etapa de refinamento com cada vez mais vasos tortuosos falsos. . . . .	105



---

# Lista de siglas

---

- 2D** Bidimensional
- 3D** Tridimensional
- AM** Aprendizado de Máquina
- AP** Aprendizado Profundo
- AUC** Área sob a Curva ROC
- CNN** Rede Neural Convolutacional
- DSC** Coeficiente de Sørensen-Dice
- ICM** Métrica da Contagem de Pontos de Inflexão
- IoU** Índice de Jaccard
- IR** Intensidade Relativa
- KDE** Estimativa de Densidade por Kernel
- ReLU** Unidade Linear Retificada
- REVR** Rede Especializada em Vasos Retos
- REVT** Rede especializada em Vasos Tortuosos
- ROC** Característica de Operação do Receptor
- SOAM** Métrica da Soma dos Ângulos
- SP** Predição Estruturada
- VRC** Variação Relativa de Comprimento





---

# Sumário

---

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>21</b>
1.1	Contextualização e problemática	21
1.2	Objetivos e justificativa	23
1.3	Organização do trabalho	25
<b>2</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b>	<b>27</b>
2.1	Técnicas de imageamento de vasos sanguíneos	27
2.1.1	Microscopia confocal	27
2.1.2	Retinografia	28
2.2	Procedimento usual para a segmentação de vasos sanguíneos	29
2.2.1	Filtro de Frangi	30
2.2.2	Binarização	34
2.3	Esqueletização	36
2.3.1	Definições de esqueleto	36
2.3.2	Breve descrição de diferentes métodos de esqueletização	37
2.3.3	Afinamento topológico e suas aplicações em vasos sanguíneos	39
2.4	Segmentação utilizando métodos de aprendizado profundo	41
2.4.1	Aprendizado de máquina e redes profundas	41
2.4.2	Arquitetura U-Net	43
2.4.3	Redes neurais residuais	46
2.5	Transformação elástica	47
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>49</b>
3.1	Cálculo de tortuosidade em vasos sanguíneos	49
3.1.1	Definições e métodos clássicos	49
3.1.2	Princípio da composicionalidade e análise da hemodinâmica do vaso	53
3.2	Segmentação de vasos sanguíneos usando aprendizado profundo	55

<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>63</b>
4.1	Segmentação como módulo de pré-processamento de imagens biológicas	63
4.2	Bases de dados	67
4.2.1	CORTEX: Córtex cerebral de camundongos por microscopia confocal	67
4.2.2	DRIVE: Digital Retinal Images for Vessel Extraction	68
4.3	Estudo da influência do filtro de Frangi no cálculo de tortuosidade	68
4.3.1	Geração de vasos artificiais	69
4.3.2	Filtragem e quantificação da qualidade do realce	73
4.4	Cálculo de tortuosidade por regressão linear	74
4.5	Influência do conj. de treinamento na tortuosidade de vasos sanguíneos segmentados por AP	76
4.5.1	Verificação de vieses de segmentação: base de dados DRIVE	76
4.5.2	Quantificação de vieses de tortuosidade em redes pré-treinadas: base de dados CORTEX	80
4.5.3	Uso de transformações elásticas para melhorar a estimação de tortuosidade	86
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>89</b>
5.1	Impacto do realce na análise da tortuosidade de vasos sanguíneos gerados artificialmente	89
5.1.1	Análise do modelo de geração de vasos artificiais	89
5.1.2	Definição de métricas para quantificar problemas de realce	89
5.1.3	Quantificação dos problemas de realce ao variar diferentes parâmetros do gerador	93
5.2	Influência do conj. de treinamento na tortuosidade de vasos sanguíneos segmentados por AP	97
5.2.1	Verificação de vieses de segmentação: base de dados DRIVE	97
5.2.2	Quantificação de vieses de tortuosidade em redes pré-treinadas: base de dados CORTEX	98
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>107</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>111</b>

---

# Capítulo 1

## Introdução

---

*Nesse capítulo, contextualizamos os avanços recentes sobre morfometria automatizada de vasos sanguíneos, e a necessidade de preservar os valores corretos de tortuosidade após as diferentes etapas de processamento dessas imagens. Ademais, expomos os objetivos e justificativas que envolvem o desenvolvimento desse trabalho, assim como a organização do mesmo.*

### 1.1 Contextualização e problemática

Diversos tipos de patologias causam alterações na hemodinâmica (fluxo sanguíneo) em diferentes partes de um organismo. Propriedades como tortuosidade, diâmetro e comprimento dos vasos sanguíneos podem ser indicadores do desenvolvimento de anomalias, tais como, tumores malignos (FOLARIN et al., 2010; LAUFER et al., 2012), aneurismas (STRAKA et al., 2004; KLIŠ et al., 2019) e estenoses (SATO et al., 1998a; FRANGI et al., 2000). A medição correta desses valores, também chamada de morfometria de vasos sanguíneos, é de grande importância para pesquisadores da área de ciências biológicas, uma vez que ela permite a análise de possíveis alterações de vasos sanguíneos, *in-vivo* ou *in-vitro*, dependendo da técnica de imageamento utilizada.

A morfometria de vasos sanguíneos em tecidos biológicos é tradicionalmente realizada por meio da inspeção visual de especialistas. Estudos mais antigos realizavam essas análises de maneira manual, recolhendo amostras de tecido e caracterizando as áreas de interesse diretamente, por meio de instrumentos como micrômetros e microscópios óticos (MATSUBARA et al., 1984; WIEBE; LAURSEN, 1998). Embora essa abordagem clássica ainda seja válida e utilizada em trabalhos mais recentes (MARCON et al., 2016), avanços na computação e nas técnicas de imageamento possibilitaram aos pesquisadores coletar dados de alta definição, em duas ou três dimensões, e desenvolver métodos para a realização da morfometria automática das estruturas de interesse.

Avanços recentes na área de microscopia possibilitaram o imageamento de redes vasculares completas, com precisão de microns, sendo possível observar até os mais pequenos capilares (vasos muito finos) do cérebro de um camundongo (TODOROV et al., 2020; KIRST et al., 2020). Porém, ao passo em que aumenta-se a qualidade e resolução das imagens, torna-se também mais custosa a realização de morfometria manual por especialistas. Em certos casos, segmentar manualmente volumes tão complexos como a rede vascular de um cérebro de camundongo, demandaria o esforço correspondente a um ano de trabalho humano (TODOROV et al., 2020). Nesse sentido, o desenvolvimento de técnicas para a realização de morfometria automática é fundamental para imagens contendo milhares de segmentos de vasos sanguíneos.

Uma propriedade muito relevante para a caracterização de vasos sanguíneos é a tortuosidade, utilizada para definir o grau de irregularidade do caminho percorrido pelos vasos no organismo. Em muitos casos, a tortuosidade se relaciona diretamente com a hemodinâmica dos vasos sanguíneos, pois vasos mais tortuosos tendem a ter o fluxo sanguíneo prejudicado (JOHNSON; DOUGHERTY, 2007). Dessa forma, vasos sanguíneos tortuosos podem não apenas ser um indicativo de patologias preexistentes, como podem também, por si só, causar novas patologias. Por exemplo, uma hipótese inicialmente publicada por Azmitia et al. (2016), sugere que o autismo pode estar relacionado à alterações na formação de vasos sanguíneos e, conseqüentemente, à obstrução do fluxo sanguíneo em regiões específicas do córtex. Essa hipótese foi apoiada recentemente em um trabalho publicado por Ouellette et al. (2020), onde os autores observaram alterações na formação dos vasos sanguíneos nos cérebros de camundongos afetados por condições similares às observadas no autismo em humanos. Portanto, a definição de metodologias robustas e sistemáticas para quantificar a tortuosidade de vasos sanguíneos é um assunto bem estudado na literatura (HART et al., 1999; BULLITT et al., 2003; WILSON et al., 2008; MA et al., 2019; TONGPOB et al., 2019).

A grande maioria dos métodos automáticos de cálculo de tortuosidade envolvem dois passos principais: primeiro, a segmentação dos vasos sanguíneos dentro de um volume de interesse, seguida de uma etapa de detecção do eixo medial desses vasos, muitas vezes chamado de esqueleto. A tortuosidade pode então ser definida por meio de algoritmos aplicados a esse eixo medial, seguindo o pressuposto de que tal esqueleto é uma representação fiel do formato original do vaso. Hoje, tais etapas são comumente implementadas por meio de métodos clássicos de realce (KOLLER et al., 1995; FRANGI et al., 1998), segmentação (OTSU, 1979) e algoritmos de esqueletização (PALÁGYI; KUBA, 1998; PALÁGYI; KUBA, 1999b; PALÁGYI; KUBA, 1999a) presentes na literatura.

É possível observar uma relação de dependência entre as etapas do cálculo da tortuosidade de vasos sanguíneos. Por exemplo, o filtro de Frangi (FRANGI et al., 1998), muito utilizado para o realce de vasos sanguíneos, utiliza a hipótese de que as estruturas de interesse são localmente tubulares. Porém, vasos sanguíneos que possuam alto nível de

tortuosidade tendem a ter regiões que não se assemelham completamente a um tubo, e logo, podem não ser realçadas corretamente. Tais problemas de realce, quando ocorridos no início do processo de segmentação, podem ser propagados às etapas subsequentes da metodologia utilizada para morfometria, o que pode adicionar um viés aos valores de tortuosidade calculados, e por consequência, conclusões errôneas sobre as características dos vasos sanguíneos estudados. Até onde sabemos, essa propagação de vieses no cálculo de tortuosidade não foi discutida na literatura, sendo que os estudos que tratam da definição de novas propriedades de tortuosidade tendem a ignorar a influência das etapas de pré-processamento no resultado final. Portanto, pretendemos estudar a influência da tortuosidade em algoritmos de realce e segmentação de vasos sanguíneos.

É possível ainda expandir a análise da tortuosidade e estudar a influência que o conjunto de dados possui nos valores de tortuosidade obtidos. Há diversos tipos de vasos sanguíneos no organismo animal, com uma grande variação de atributos, como calibre, comprimento, textura, etc. Ainda, cada técnica diferente de imageamento que pode ser usada em determinado tecido possui suas particularidades, como seu esquema de cores, função de espalhamento pontual e relação sinal-ruído. Nesse contexto, é comum que um algoritmo desenvolvido para um tipo de imagem de vasos sanguíneos seja aplicado em um conjunto de dados diferente do originalmente utilizado na criação do algoritmo. Portanto, é necessário que os algoritmos desenvolvidos tenham *capacidade de generalização*, ou seja, possuir bom desempenho quando submetidos a um tipo de dado ao qual eles não foram originalmente propostos. Por exemplo, algoritmos desenvolvidos para conjuntos de dados possuindo vasos pouco tortuosos podem não possuir boa qualidade ao serem aplicados em vasos sanguíneos possuindo alta tortuosidade. Essa situação pode ocorrer especialmente em pesquisas que façam uso de softwares com implementações prontas de algoritmos para realce, segmentação e morfometria de vasos sanguíneos.

Entender a relação entre os algoritmos utilizados em um processo de cálculo de tortuosidade de vasos sanguíneos é uma tarefa complicada, ainda mais quando considera-se a influência do conjunto de dados em algoritmos já publicados na literatura. Mesmo assim, a caracterização dos vieses que podem ocorrer nesse processo é um recurso valioso que pode vir a melhorar consideravelmente a acurácia de futuras análises realizadas em pesquisas de fronteira sobre o sistema cardiovascular.

## 1.2 Objetivos e justificativa

O objetivo geral do nosso trabalho é entender a associação entre a tortuosidade e diversas etapas do processamento digital de vasos sanguíneos. Como suporte à solução de nossa problemática, dividimos esse trabalho nos seguintes objetivos específicos:

- **Quantificação da influência da tortuosidade em algoritmos de realce de vasos sanguíneos:** Por meio de um gerador de vasos sanguíneos artificiais, contro-

lamos os parâmetros de tortuosidade dos vasos gerados, e medimos seu impacto na qualidade do realce feito por algoritmos especializados. Em nossos experimentos, utilizamos o filtro de Frangi (FRANGI et al., 1998) como método de realce dos vasos artificiais. O desenvolvimento do gerador, a definição de métricas de qualidade e os resultados dessa análise estão descritos nas Seções 4.3 e 5.1.

- **Estudo do impacto da tortuosidade em algoritmos de segmentação por aprendizado profundo:** Métodos de aprendizado profundo (AP) têm ganhado popularidade para a segmentação automática de vasos sanguíneos. Por outro lado, é comum que a qualidade desses métodos seja avaliada utilizando medidas globais de acurácia, e pouca atenção é dada para possíveis alterações na morfometria de vasos sanguíneos. Portanto, analisamos a qualidade da segmentação em função da tortuosidade calculada dos vasos sanguíneos. Experimentos foram realizados utilizando uma rede neural variante da U-Net (RONNEBERGER; FISCHER; BROX, 2015) – vide Seção 2.4.2 – e da Resnet34 (HE et al., 2016) – vide Seção 2.4.3. Experimentos e resultados dessa análise são descritos nas Seções 4.5.1 e 5.2.1 respectivamente.
  
- **Investigação da capacidade de generalização de redes neurais profundas para conjuntos de dados de vasos sanguíneos possuindo níveis de tortuosidade distintos:** Nesse caso, variamos o conjunto de treinamento aplicado à uma rede neural profunda e observamos como esse conjunto de treinamento afeta a capacidade da rede em reconhecer vasos possuindo diferentes valores de tortuosidade. Dessa forma, ao treinar a rede com um conjunto de dados enviesado, como por exemplo, majoritariamente composto por vasos tortuosos, podemos quantificar a qualidade de segmentação da rede quando aplicada em vasos pouco tortuosos. Essa análise pode ser feita com diferentes combinações de dados, enviesando o conjunto de treinamento para ter vasos mais tortuosos, retos, ou qualquer combinação entre as classes. Experimentos e resultados dessa análise são descritos nas Seções 4.5.1 e 5.2.1 respectivamente.
  
- **Análise do potencial do aprendizado por transferência e aumento de dados em evitar estimativas incorretas sobre a morfometria de vasos sanguíneos:** Após verificar os possíveis vieses que podem ocorrer ao segmentar vasos utilizando redes pré-treinadas, estudamos a possibilidade de melhorar a capacidade de generalização de tais redes utilizando dados novos, coletados em novas condições experimentais. Nesse caso, dividimos uma extensa base de vasos sanguíneos imageados por microscopia confocal entre as categorias de “tortuoso” e “reto”, especializamos redes neurais em cada uma dessas categorias, e tentamos reverter a especialização utilizando o conjunto de dados oposto. Ainda, definimos uma metodologia para fazer essa especialização sem o uso de novos dados, utilizando transformações aplicadas

aos dados originais. Experimentos e resultados dessa análise são descritos nas Seções [4.5.2](#) e [5.2.2](#).

Com esses objetivos específicos, esperamos entender melhor a relação que a tortuosidade possui com as principais etapas de processamento utilizadas para morfometria de vasos sanguíneos, com especial enfoque para a segmentação. Também, buscamos definir métricas para descrever essas relações, proporcionando a trabalhos futuros uma melhor perspectiva sobre as escolhas de quais algoritmos empregar em suas metodologias.

## 1.3 Organização do trabalho

Este trabalho está organizado da seguinte maneira:

O Capítulo [2](#), apresenta todo o referencial teórico utilizado neste trabalho. São descritas técnicas de imageamento de vasos sanguíneos, métodos de realce, segmentação e esqueletização de vasos.

No Capítulo [3](#), apresentamos trabalhos relacionados já publicados na literatura. Abrangemos nesse capítulo diferentes definições sobre tortuosidade de vasos, além das metodologias empregadas para quantificar essa propriedade. Ainda, são apresentados avanços recentes à respeito da área de segmentação de vasos sanguíneos por métodos de AP.

O Capítulo [4](#) explicita a metodologia utilizada em nossos experimentos, além da motivação por trás do planejamento dos mesmos.

No Capítulo [5](#), exibimos os resultados obtidos por nossos experimentos.

Por fim, o Capítulo [6](#) discorre sobre considerações em relação aos experimentos realizados, assim como possíveis trabalhos futuros.





---

## Capítulo 2

# Fundamentação Teórica

---

*Neste capítulo, descreveremos o referencial teórico utilizado. Primeiro, discorreremos sobre os dois tipos de imagens que utilizamos no desenvolvimento deste trabalho: imagens de microscopia confocal, e de retinografia. Em seguida, descrevemos um procedimento comumente empregado na segmentação de vasos sanguíneos, que envolve etapas de realce, binarização e esqueletização. Por fim, descrevemos a tendência mais atual de realizar a segmentação de vasos utilizando técnicas de aprendizado profundo, juntamente com algumas arquiteturas de rede usualmente empregadas na literatura.*

## 2.1 Técnicas de imageamento de vasos sanguíneos

As bases de dados utilizadas neste trabalho compreendem dois tipos de imageamento: microscopia confocal do córtex cerebral de camundongos e imagens de fundo de olho de pacientes diabéticos – ambas as bases são apresentadas na Seção 4.2. A seguir, apresentaremos uma explicação básica desses dois métodos de imageamento.

### 2.1.1 Microscopia confocal

Um dos métodos de preparo de amostras e imageamento mais utilizados para o estudo e diagnóstico de patologias é a histoquímica (LOKMIC; MITCHELL, 2011), técnica que consiste na análise de diferentes tecidos biológicos pelo seccionamento dos mesmos, e o subsequente tratamento químico que possibilita sua visualização microscópica (RAMOS-VARA, 2005). Desde seu surgimento na década de 40 (COONS; CREECH; JONES, 1941), essa técnica foi passando por diversas melhorias, com as primeiras tentativas de obtenção de dados tridimensionais (3D) sendo executadas no final da década de 60 e início de 70 (MARCUM; WELLINGS, 1969; WELLINGS; JENSEN, 1973; WELLINGS; JENSEN;

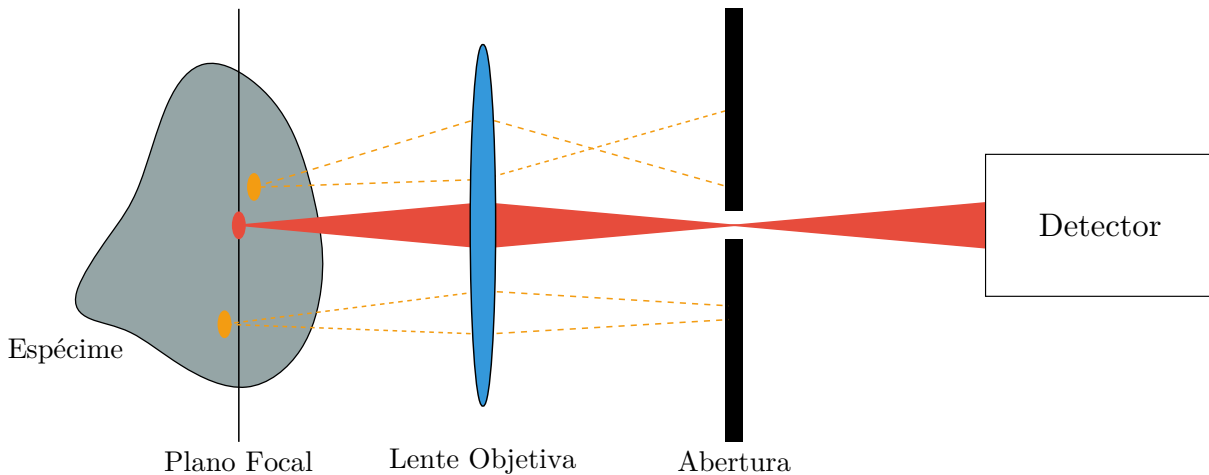


Figura 2.1 – Esquema de captura de luz em um microscópio confocal. Uma pequena abertura permite a passagem apenas da luz proveniente do ponto de foco (ponto vermelho). As luzes oriundas de pontos fora de foco (pontos amarelos) têm seu caminho ao detector bloqueado. Fonte: Próprio autor.

MARCUM, 1975). Com o avanço das técnicas de clareamento de tecidos, a morfometria 3D de espécimes passou por uma revolução, tendo em vista a possibilidade de obter representações volumétricas fiéis dos tecidos pelo seccionamento óptico produzido por diversos modelos de microscopia confocal (RICHARDSON; LICHTMAN, 2015; NOJIMA et al., 2017).

Um microscópio confocal, como patentado na década de 60 (MARVIN, 1961), consiste em uma fonte de iluminação capaz de focar um feixe de luz em uma pequena porção do espécime, e uma abertura que permite apenas a passagem de luz proveniente desse ponto de foco (Figura 2.1). Dessa maneira, é possível obter representações precisas de espécimes em 3D tratando-os quimicamente, e excitando localmente esses componentes químicos (ou fluoróforos) por meio de um feixe de laser, de modo que eles emitam luz. Para a formação da imagem completa, esse ponto de foco é movido por todo o espécime, e assim, um detector recolhe a luz recebida de cada ponto, formando uma projeção com diversas camadas de profundidade (WU; MERCHANT; CASTLEMAN, 2008).

### 2.1.2 Retinografia

Anormalidades nos vasos sanguíneos presentes no interior da retina são importantes marcadores de doenças como retinopatia diabética e retinopatia da prematuridade. Nesses casos, marcadores como microaneurismas, diâmetro e tortuosidade dos vasos podem ser diretamente observados por fotografias da retina do paciente (HENEGHAN et al., 2002). Como mostra a Figura 2.2, esse exame, também chamado de retinografia, é realizado por meio de instrumentos ópticos que direcionam a luz através da pupila do paciente. A luz refletida pela superfície da retina é então capturada por um sensor de câmera, o

que permite a visualização de estruturas como o disco óptico e diversos vasos sanguíneos (PANWAR et al., 2016).

Imagens de fundo de olho proporcionam acesso relativamente fácil à vasos sanguíneos *in-vivo*, e por isso, há um grande número de trabalhos na literatura que avaliam algoritmos de processamento de vasos nesses tipos de imagem. Há ainda bases de retinografias amplamente conhecidas, como a STARE <sup>1</sup>, CHASEDB1 <sup>2</sup>, e a DRIVE <sup>3</sup>. Essa última foi utilizada por nós em nossos experimentos e será apresentada na Seção 4.2.2.

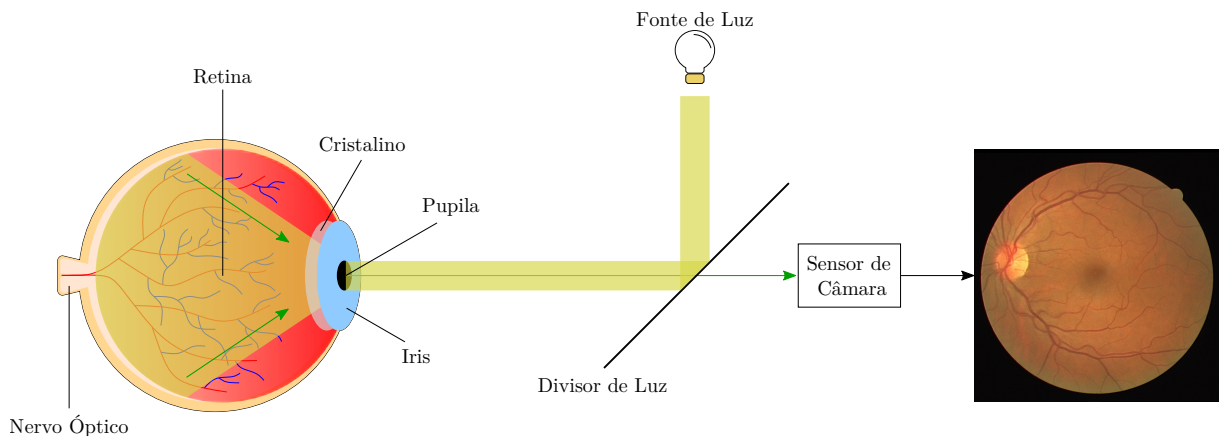


Figura 2.2 – Esquema básico de uma retinografia. Uma fonte de luz ilumina a retina do paciente (feixe amarelo). A luz refletida (setas verdes) é capturada por um sensor de câmera e forma a imagem final da retina do paciente. Notam-se os vasos sanguíneos presentes na retina, além do disco óptico (estrutura arredondada mais clara). Fonte: Próprio autor.

## 2.2 Procedimento usual para a segmentação de vasos sanguíneos

De acordo com Gonzales e Woods (2008), a segmentação é um processo que divide um dado conjunto de píxeis  $R$  em  $n$  sub-regiões,  $R_1, R_2, \dots, R_n$ , com base em um predicado  $Q$ . Para tal, alguns critérios devem ser obedecidos: (a) cada píxel de  $R$  deve pertencer a uma região; (b) todos os píxeis de determinada região  $R_k$  devem estar conectados entre si de alguma maneira; (c) as regiões devem ser disjuntas.  $Q$  por sua vez, é um predicado lógico que deve ser satisfeito para dado píxel pertencer à determinada região  $R_k$ . Assim, considerando  $R$  como uma imagem que representa um conjunto de vasos sanguíneos, podemos segmentá-la em duas regiões: **vaso**:  $Q(R_k) = Verdadeiro$ , e **fundo**:  $Q(R_k) = Falso$ .

<sup>1</sup> <<https://cecas.clemson.edu/~ahoover/stare/>>

<sup>2</sup> <<https://blogs.kingston.ac.uk/retinal/chasedb1/>>

<sup>3</sup> <<https://drive.grand-challenge.org/>>

Fazer suposições sobre a intensidade dos vasos sanguíneos na imagem é uma das estratégias mais simples para realizar a segmentação corretamente. Em certas modalidades de imageamento, os vasos sanguíneos são exibidos dentro de uma variação específica de intensidade (LESAGE et al., 2009). Porém, usualmente supõe-se que os vasos possuem maior valor de intensidade que as estruturas ao seu redor (LESAGE et al., 2009).

Questões como ruído e diferenças de intensidade também devem ser levadas em consideração ao segmentar uma imagem, sendo quase sempre necessário um pré-processamento antes de separá-la em regiões. O pré-processamento varia conforme o tipo de imagem, e para vasos sanguíneos, características como a cor contrastante dos vasos em relação ao fundo e suposições sobre sua geometria podem ser utilizadas como parâmetros em métodos de realce de estruturas tubulares.

### 2.2.1 Filtro de Frangi

O realce de estruturas tubulares é amplamente utilizado na literatura como ferramenta para facilitar a segmentação de vasos sanguíneos em uma imagem (LESAGE et al., 2009). Nesse quesito, uma das metodologias mais difundidas atualmente, e implementada em diversos softwares utilizados para a análise de vasos sanguíneos, consiste na construção de filtros que levam em consideração uma matriz de derivadas parciais de segunda ordem, formalmente chamada de matriz Hessiana.

Dada uma função  $f$  de  $n$  variáveis, sua Hessiana consiste em uma matriz quadrada  $n \times n$  que contém todas as derivadas parciais de segunda ordem da função em um determinado ponto  $\vec{r}$ . Assim, a Hessiana de um ponto  $\vec{r}$  em uma imagem  $I$  de 3 dimensões é definida por:

$$H_I(\vec{r}) = \begin{bmatrix} I_{xx}(\vec{r}) & I_{xy}(\vec{r}) & I_{xz}(\vec{r}) \\ I_{yx}(\vec{r}) & I_{yy}(\vec{r}) & I_{yz}(\vec{r}) \\ I_{zx}(\vec{r}) & I_{zy}(\vec{r}) & I_{zz}(\vec{r}) \end{bmatrix}, \quad (2.1)$$

sendo  $\vec{r} = (x, y, z)$ , e cada item da matriz definindo uma derivada parcial, como  $I_{xx} = \frac{\partial^2 f}{\partial x^2}$ ,  $I_{xy} = \frac{\partial^2 f}{\partial x \partial y}$ , e assim por diante (SATO et al., 1998b).

No trabalho de Frangi et al. (1998), para analisar o comportamento local de uma imagem  $L$ , os autores propõem o uso da expansão de Taylor na vizinhança de determinado ponto  $\vec{r}$ :

$$L(\vec{r} + \delta\vec{r}, s) \approx L(\vec{r}, s) + \delta\vec{r}^T \nabla_s + \delta\vec{r}^T H_s \delta\vec{r}. \quad (2.2)$$

Essa expansão consiste na aproximação de segunda ordem das estruturas que contornam o ponto  $\vec{r}$ .  $\nabla_s$  e  $H_s$  são, respectivamente, o gradiente e a matriz Hessiana, ambos calculados no ponto  $\vec{r}$  em uma escala  $s$ .

Considerando que a derivação de uma imagem suavizada é análoga à convolução da mesma com a derivada de um filtro Gaussiano, o fator escala  $s$  dessa abordagem pode ser controlado pelo desvio padrão dessa Gaussiana, assim:

$$\frac{\partial}{\partial \vec{r}} L(\vec{r}, s) = s^\gamma L(\vec{r}) * \frac{\partial}{\partial \vec{r}} G(\vec{r}, s), \quad (2.3)$$

onde  $G(\vec{r}, s)$  é uma Gaussiana de  $D$  dimensões definida por:

$$G(\vec{r}, s) = \frac{1}{\sqrt{(2\pi s^2)^D}} e^{-\frac{\|\vec{r}\|^2}{2s^2}}. \quad (2.4)$$

A altura de uma Gaussiana normalizada tende a diminuir conforme aumenta-se seu desvio padrão. Assim,  $\gamma$  é um parâmetro de normalização que busca igualar os valores de resposta independentemente da escala que está sendo trabalhada. Para ignorar essa normalização, pode-se definir  $\gamma = 1$  (LINDEBERG, 1998).

O resultado da derivada de segunda ordem de uma Gaussiana gera um filtro que mede o contraste entre regiões dentro e fora do intervalo definido por  $(-s, s)$ . Uma das formas de quantificar esse contraste, e portanto, analisar a topologia de um objeto em uma imagem, é por meio da análise dos *autovetores* e *autovalores* da Hessiana calculada para determinado ponto de tal imagem.

Dada uma transformação  $T : V \rightarrow V$ . Se existir um vetor  $\vec{v} \in V$ ,  $\vec{v} \neq 0$ , e um escalar  $\lambda \in \mathbb{R}$  tal que  $T\vec{v} = \lambda\vec{v}$ ,  $\lambda$  é um autovalor de  $T$  e  $\vec{v}$  é um autovetor de  $T$  associado a  $\lambda$  (BOLDRINI et al., 1986). Dessa forma, sendo  $\lambda_{s,k}$  o autovalor correspondente ao  $k$ -ésimo autovetor  $\vec{v}_{s,k}$  da Hessiana  $H_s$  calculada para a escala  $s$ , pela definição de autovetores temos que:

$$H_s \vec{v}_{s,k} = \lambda_{s,k} \vec{v}_{s,k}, \quad (2.5)$$

e portanto:

$$\vec{v}_{s,k}^T H_s \vec{v}_{s,k} = \lambda_{s,k}. \quad (2.6)$$

Os autovalores e autovetores da Hessiana podem ser interpretados como uma elipsoide que descreve a topologia da vizinhança de  $\vec{r}$ . No caso de uma imagem 3D, sua Hessiana possui 3 autovetores e autovalores associados, dessa forma, os três eixos que definem a elipsoide apontam para a direção dos autovetores da Hessiana em  $\vec{r}$ , enquanto a magnitude desses eixos representam os autovalores correspondentes. Essa representação é ilustrada na Figura 2.3.

Essa interpretação geométrica é a principal ferramenta utilizada pelo filtro de Frangi et al. (1998) para a análise da topologia local. Os três eixos da elipsoide, análogos aos autovetores, quando ordenados por suas magnitudes (autovalores), descrevem em ordem crescente as direções que possuem maior variação de intensidade. Desse modo, ordenando

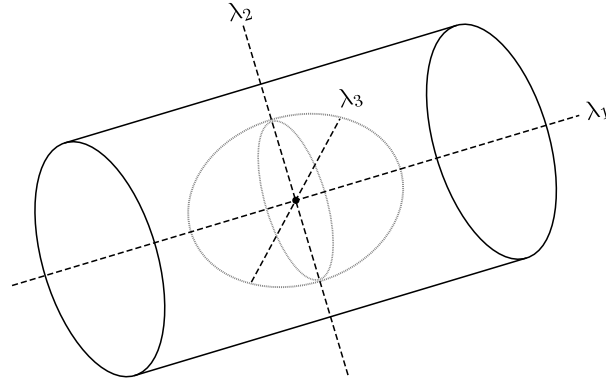


Figura 2.3 – Representação gráfica de uma elipsoide que descreve a topologia local de um ponto. Os três eixos da elipsoide apontam para a direção dos autovetores de sua Hessiana e possuem magnitudes referentes aos autovalores correspondentes:  $\lambda_1$ ,  $\lambda_2$  e  $\lambda_3$ . Adaptado de Frangi et al. (1998).

os autovalores de maneira que  $|\lambda_1| \leq |\lambda_2| \leq |\lambda_3|$ , um ponto correspondente a uma estrutura tubular em 3D possui as seguintes características:

$$|\lambda_1| \approx 0, \quad (2.7)$$

$$|\lambda_1| \ll |\lambda_2|, \quad (2.8)$$

$$|\lambda_2| \approx |\lambda_3|. \quad (2.9)$$

Ou seja, um tubo ideal deve possuir baixíssima variação de intensidade (idealmente 0) em uma de suas direções, correspondente ao caminho que o vaso percorre, e variações consideravelmente maiores e semelhantes entre si nas outras duas direções, compatível com a diferença de intensidade entre vaso e fundo.

Como mostra a Figura 2.4, além de tubos, outros dois tipos de estruturas podem ser identificadas a partir dos autovalores ordenados da Hessiana: *blobs* e pratos. Os *blobs* são estruturas aproximadamente esféricas, assim, seus três autovalores possuem módulos semelhantes, denotando variações de intensidade semelhantes para todas as direções. Já os pratos, assim como as estruturas tubulares, possuem baixa variação de intensidade em uma de suas direções, porém há uma discrepância entre seus autovalores de maior magnitude ( $\lambda_2$  e  $\lambda_3$ ), o que denota um achatamento em uma de suas direções.

Para detecção efetiva de vasos sanguíneos, Frangi et al. (1998) desenvolveram uma medida de dissimilaridade que possui alta resposta para regiões tubulares, porém pune outros tipos de estruturas que podem ser encontradas na imagem. O primeiro coeficiente da dissimilaridade, chamado de  $R_b$ , objetiva punir estruturas em formato de *blob*, atingindo máximo valor de resposta para esse tipo de estrutura, e 0 quando  $\lambda_1 \approx 0$  ou  $\lambda_1$  é muito

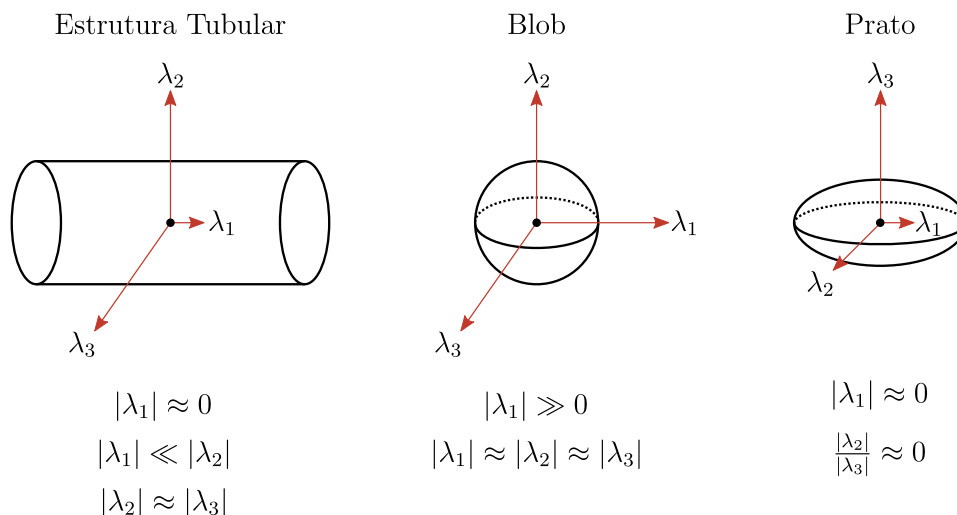


Figura 2.4 – Três tipos de estruturas que podem ser identificadas utilizando os autovalores da Hessiana. Fonte: Próprio autor.

menor que os demais autovalores. Assim:

$$R_b = \frac{|\lambda_1|}{\sqrt{|\lambda_2 \lambda_3|}}. \quad (2.10)$$

Embora  $R_b$  consiga distinguir bem *blobs* e estruturas tubulares, somente esse coeficiente não é suficiente para determinar se a estrutura é de fato um vaso sanguíneo ou possui o formato achatado de um prato. Dessa forma, o segundo coeficiente da dissimilaridade, chamado de  $R_a$ , leva em consideração os autovalores que descrevem as duas maiores variações de intensidade dentro de uma estrutura ( $\lambda_2$  e  $\lambda_3$ ). Quanto mais perto de um cilindro perfeito, o valor de  $R_a$  tende a 1. Do contrário,  $\lambda_3 \gg \lambda_2$  e  $R_a$  tende a 0 à medida em que a estrutura torna-se mais achatada, aproximando-se de um plano. Portanto:

$$R_a = \frac{|\lambda_2|}{|\lambda_3|}. \quad (2.11)$$

Embora não representem nenhuma estrutura em particular, píxeis de fundo teriam respostas imprevisíveis ao filtro devido ao fato de possuírem variações aleatórias de intensidade por conta de ruído. De maneira geral, os píxeis de fundo possuem baixas magnitudes de suas derivadas, o que resulta em respectivos baixos autovalores de sua Hessiana. Assim, o terceiro coeficiente da dissimilaridade é definido pela soma dos quadrados dos autovalores da matriz Hessiana de determinado ponto:

$$L = \sqrt{\sum_{j \leq D} \lambda_j^2}, \quad (2.12)$$

onde  $D$  corresponde à dimensão da imagem.  $L$  será baixo em regiões que não definem nenhuma estrutura específica, e portanto possuem baixos autovalores devido à falta de



contraste entre um ponto e seus vizinhos. Por outro lado,  $L$  terá valor alto em regiões de alto contraste em relação ao fundo, que possuem pelo menos um dos autovalores altos.

Definidos esses três coeficientes, a função que calcula a *tubularidade* de determinado ponto em uma imagem é definida como:

$$\nu_o(s) = \begin{cases} 0, & \text{caso } \lambda_2 > 0 \text{ ou } \lambda_3 > 0, \\ (1 - \exp(-\frac{Ra^2}{2\alpha^2})) \exp(-\frac{Rb^2}{2\beta^2})(1 - \exp(-\frac{L^2}{2c^2})) & \end{cases}, \quad (2.13)$$

onde  $\alpha$ ,  $\beta$ , e  $c$  são parâmetros que controlam a sensibilidade do filtro em relação a  $R_a$ ,  $R_b$ , e  $L$  respectivamente. Dessa forma,  $\nu_o$ , mapeia a região de uma imagem em uma função que apenas atinge valor máximo quando todas as condições definidas são satisfeitas. A condição  $\nu_o(s) = 0$  caso  $\lambda_2 > 0$  ou  $\lambda_3 > 0$  é imposta para garantir que apenas estruturas com alta intensidade envoltas em um fundo escuro sejam consideradas.

Para cada escala  $s$ , o resultado do filtro tenderá a realçar vasos que possuam espessura semelhante ao desvio padrão da Gaussiana utilizada na derivação da imagem (Eq. 2.3 e 2.4). Portanto, o resultado final da análise multiescala de determinada imagem é obtido pela projeção dos máximos de cada ponto em relação às diferentes escalas utilizadas:

$$V_o = \max_{s_{min} \leq s \leq s_{max}} \nu_o(s), \quad (2.14)$$

onde  $s_{min}$  e  $s_{max}$  são as escalas mínima e máxima utilizadas. Estas podem ser selecionadas conforme as diferentes espessuras de vasos presentes na imagem.

De maneira geral, o filtro de Frangi comporta-se muito bem em tarefas de realce de vasos sanguíneos. Entretanto, problemas de realce podem ocorrer em regiões de bifurcação e vasos com alta tortuosidade. Um exemplo disso é demonstrado pela Figura 2.5: um bom realce é obtido em boa parte da imagem, porém, em algumas regiões específicas, há descontinuidades na intensidade. Esse e outros problemas serão explorados mais profundamente no decorrer desse trabalho, mais especificamente, no Capítulo 4.3.

### 2.2.2 Binarização

Quando bem aplicada, a etapa de realce de vasos sanguíneos retorna uma nova imagem com uma separação visual clara entre píxeis que pertencem a vasos e píxeis que pertencem ao fundo da imagem. Assim, após o realce das estruturas desejadas, é esperado que seja mais fácil segmentar a imagem em diferentes regiões. Nesse sentido, algoritmos de binarização ideais conseguem aproveitar as informações obtidas em etapas anteriores de pré-processamento e realizar uma boa divisão da imagem em duas regiões.

Existem diversos algoritmos de binarização bem difundidos na literatura, cada qual com uma diferente abordagem de segmentação que pode funcionar melhor ou pior dependendo do tipo da imagem. Por exemplo, o método de crescimento de regiões expande as regiões

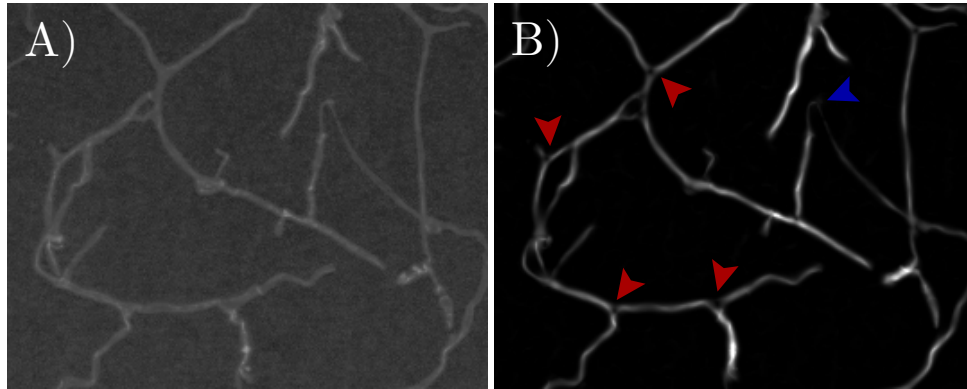


Figura 2.5 – Possíveis descontinuidades que podem ocorrer após a aplicação do filtro de Frangi em uma imagem de vasos sanguíneos. (A) Imagem original. (B) Imagem realçada pelo filtro de Frangi: setas vermelhas indicam descontinuidades em regiões de bifurcação; a seta azul marca uma descontinuidade na intensidade causada pela tortuosidade do vaso. Figura processada em 2D. Fonte: Próprio autor.

que se deseja segmentar a partir de pontos iniciais na imagem denominados “sementes”. O operador morfológico *watershed* considera a intensidade da imagem como uma dimensão à parte, formando um mapa topográfico, assim, as regiões da imagem são separadas pelos cumes formados por altas intensidades. Por fim, os contornos ativos são curvas paramétricas que separam as regiões de uma imagem, sendo que a curva é otimizada utilizando critérios como o gradiente da imagem (KASS; WITKIN; TERZOPOULOS, 1988), e as médias das intensidades dentro e fora das áreas delimitadas pela curva (CHAN; VESE, 2001).

Considerando um bom resultado na etapa de realce dos vasos sanguíneos, deve haver grande contraste entre a região de interesse e o fundo da imagem. Nesse caso, uma limiarização simples de intensidade deve proporcionar resultados satisfatórios para a segmentação de vasos sanguíneos. Nessa abordagem, dado um píxel  $f(x, y)$  de uma imagem 2D, seu novo valor  $g(x, y)$  mapeado para apenas dois valores de intensidade é definido por:

$$g(x, y) = \begin{cases} 1, & \text{se } f(x, y) > T \\ 0, & \text{se } f(x, y) \leq T \end{cases}, \quad (2.15)$$

onde  $T$  é um valor de limiar global que pode ser obtido por diferentes métodos. Alguns dos mais conhecidos são o limiar global básico (GONZALES; WOODS, 2008) e o método de Otsu (OTSU, 1979).

Diferenças de intensidade entre regiões de uma mesma imagem são inerentes a vários métodos de imageamento. Tais diferenças muitas vezes permanecem na versão realçada da imagem, dificultando a definição de um limiar global ideal que separe a imagem em duas classes. Para contornar isso, pode-se utilizar uma abordagem local para a determinar

o valor de  $T$ . Deste modo, a chamada binarização por limiar de intensidade adaptativo pode ser definida por:

$$g(x, y) = \begin{cases} 1, & \text{se } Q(S_{xy}) \text{ é verdadeiro} \\ 0, & \text{se } Q(S_{xy}) \text{ é falso} \end{cases}, \quad (2.16)$$

onde  $Q$  é um predicado lógico baseado em parâmetros obtidos a partir da vizinhança  $S_{xy}$  de dado píxel. Esses parâmetros podem compreender diversas informações de intensidade em  $S_{xy}$ , como média, mediana ou desvio padrão, assim como serem obtidos a partir de métodos de limiarização global aplicados somente à  $S_{xy}$  (GONZALES; WOODS, 2008).

A binarização de vasos sanguíneos por limiar adaptativo foi empregada com sucesso em diversos trabalhos da literatura, nos quais  $Q$  é variado conforme a natureza do problema. Como exemplos, no trabalho de Lacoste et al. (2014), a média de intensidades da vizinhança é utilizada na escolha de um limiar ótimo. Já no trabalho de Issac, Partha Sarathi e Dutta (2015), o limiar é escolhido com base em estatísticas obtidas pelo histograma suavizado de uma região de interesse. Um outro exemplo é o trabalho de Duan, Hong e Yasuno (2013), onde os autores definem um limiar com base na intensidade de um píxel ponderada pelo seu gradiente.

## 2.3 Esqueletização

### 2.3.1 Definições de esqueleto

Dado um objeto, seu esqueleto pode ser definido por uma estrutura centralizada que descreve sua topologia e geometria. Seu caráter compacto torna-o um ótimo descritor morfológico, tendo em vista a simplicidade de sua representação e a consequente eficiência computacional de sua manipulação (TAGLIASACCHI et al., 2016).

O esqueleto de um objeto 3D previamente segmentado pode ser classificado essencialmente em dois tipos: os superfície-esqueletos (do inglês *surface skeletons*), e os curva-esqueletos (do inglês *curve skeletons*) (TAGLIASACCHI et al., 2016). Os superfície-esqueletos podem ser facilmente explicados utilizando a analogia *grassfire*. Para isso, considere um objeto 3D qualquer formado apenas de folhas secas. Ao atear fogo em toda sua superfície, o objeto será consumido de maneira constante até seu centro. Dessa forma, o superfície-esqueleto desse objeto será formado pelos locais em que o fogo de extremidades diferentes se encontram. Já os curva-esqueletos são estruturas 1D que proporcionam uma representação simplificada do objeto, e não possuem uma definição única na literatura (SILVER; CORNEA; MIN, 2007). A Figura 2.6 demonstra de maneira visual a diferença entre um superfície-esqueleto de um bloco retangular, e um curva-esqueleto do mesmo bloco. Vale ressaltar que por não ter definição única, curva-esqueletos podem variar conforme o algoritmo utilizado.

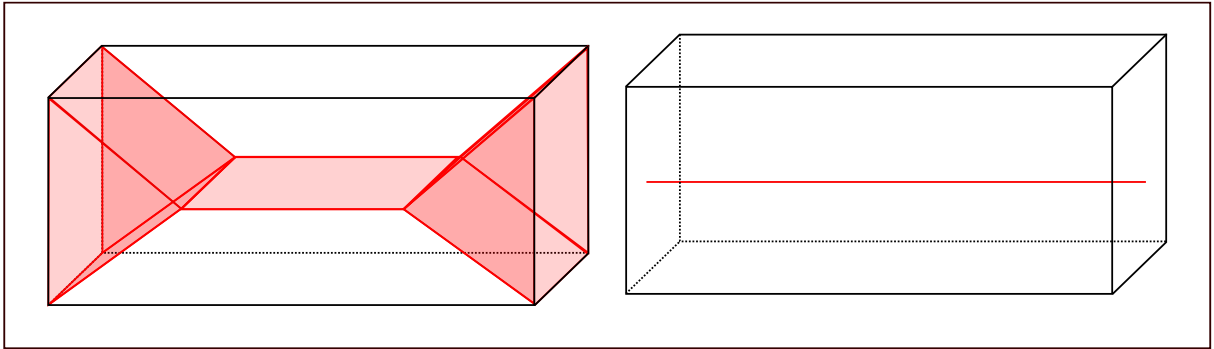


Figura 2.6 – Diferença entre o superfície-esqueleto de um bloco retangular (à esquerda) e um possível curva-esqueleto do mesmo bloco (à direita). Os esqueletos são definidos pelas estruturas em vermelho. Fonte: Próprio autor

Um esqueleto de qualidade possui algumas características desejáveis. São elas:

- ❑ Homotopia: esqueletos devem ser capazes de preservar o formato original do objeto ao qual ele representa.
- ❑ Restaurabilidade: deve ser possível reconstruir o objeto original a partir de um esqueleto que preserva o formato original do objeto.
- ❑ Invariância: esqueletos devem ser invariantes à transformações isométricas dos objetos aos quais ele representa. Ou seja, dada uma transformação  $T$  aplicada a um objeto  $O$ , e seu esqueleto  $S$ ,  $S(T(O)) = T(S(O))$ .
- ❑ Espessura: o esqueleto de um objeto deve ter a menor espessura permitida pelo espaço em que ele está representado. Dessa forma, o esqueleto de um objeto representado em uma imagem deve possuir espessura de 1 vóxel, exceto em regiões de bifurcações.
- ❑ Centralidade: um esqueleto deve estar centralizado no objeto ao qual ele está representando.
- ❑ Resolução: um esqueleto deve ter resolução suficiente para descrever todos os detalhes de seu objeto original.
- ❑ Robustez a ruídos: o esqueleto de um objeto não deve alterar sua forma por conta de ruídos que a imagem original possa ter.

### 2.3.2 Breve descrição de diferentes métodos de esqueletização

Vasos sanguíneos são naturalmente cilíndricos, sendo assim muito bem representados por curva-esqueletos. Nesse quesito, métodos para obtenção de curva-esqueletos podem ser divididos em três categorias: métodos baseados em distância, métodos geométricos, e de afinamento topológico (SILVER; CORNEA; MIN, 2007).

Os métodos baseados em distância obtêm o curva-esqueleto de um objeto com base em sua transformada de distância. A transformada de distância, por sua vez, é calculada pela distância em que determinado voxel se encontra da borda mais próxima do objeto. Dessa forma, o curva-esqueleto de um objeto pode ser determinado pelos picos da transformada de distância, ou seja, pelos pontos de valor mais alto, e conseqüentemente, mais distantes das bordas (SILVER; CORNEA; MIN, 2007). Geralmente, o conjunto de voxéis que podem pertencer ao curva-esqueleto é bem grande, por conta disso, uma etapa de remoção de ramos desnecessários deve ser aplicada. Ao final do processo, os voxéis resultantes geralmente são desconectados, e assim, uma etapa de reconexão é efetuada para enfim alcançar o resultado final (SILVER; CORNEA; MIN, 2007). Essa abordagem é bastante presente na literatura (PUDNEY, 1998; ARCELLI; Sanniti di Baja; SERINO, 2011; COUPRIE; COEURJOLLY; ZROUR, 2007), além de ser conhecida por derivar curva-esqueletos suaves e bem centralizados ao objeto (TAGLIASACCHI et al., 2016; SILVER; CORNEA; MIN, 2007). A Figura 2.7 - B apresenta visualmente a aplicação da transformada de distância em um objeto.

Os métodos baseados em geometria podem ser aplicados tanto à malhas poligonais, quanto a um conjunto de pontos esparsos no espaço (SILVER; CORNEA; MIN, 2007). Dessa categoria, a abordagem mais conhecida é a utilização do diagrama de Voronoi gerado pelos próprios vértices de uma malha poligonal 3D, ou diretamente por pontos avulsos de um objeto volumétrico (BRANDT; ALGAZI, 1992; OGNIEWICZ; KÜBLER, 1995). Ao gerar o diagrama de Voronoi, uma aproximação do superfície-esqueleto do objeto pode ser obtida a partir de suas arestas internas. Tal superfície-esqueleto pode posteriormente ser aparado para enfim obter-se um curva-esqueleto (SILVER; CORNEA; MIN, 2007) (Figura 2.7 - A). Outros métodos geométricos de esqueletização menos comuns na literatura, como a representação por *cores* e *m-reps* (BURBECK; PIZER, 1995; PIZER; THALL; CHEN, 2000) e o *shock scaffold* (LEYMARIE; KIMIA, 2003; DEY; SUN, 2006), também são utilizados para a obtenção de superfície-esqueletos que, em seguida, podem ser reduzidos a um curva-esqueleto por algoritmos específicos (BAJA; SVENSSON, 2002; SVENSSON; NYSTRÖM; BAJA, 2002).

Por fim, algoritmos de esqueletização da categoria de afinamento topológico, calculam o curva-esqueleto de um objeto a partir da remoção iterativa de voxéis com base em máscaras pré-definidas – geralmente de  $3 \times 3 \times 3$  voxéis. Tais máscaras definem se determinado voxel pode ser removido sem alterar a topologia do objeto (SILVER; CORNEA; MIN, 2007). A maioria dos métodos usados na obtenção de curva-esqueletos caem nessa categoria (TAGLIASACCHI et al., 2016), incluindo alguns dos mais utilizados na literatura (LEE; KASHYAP; CHU, 1994; PALÁGYI; KUBA, 1998; PALÁGYI; KUBA, 1999b; PALÁGYI; KUBA, 1999a). A Figura 2.7 - C demonstra visualmente a aplicação de um algoritmo de afinamento topológico em um objeto bidimensional (2D).

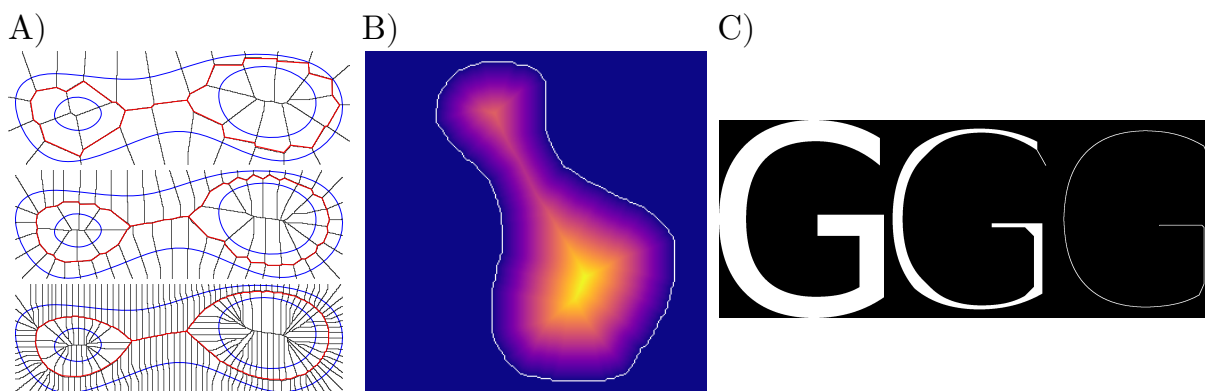


Figura 2.7 – Alguns tipos de esqueleto que podem ser definidos a partir de uma imagem binária. (A) - Obtenção do esqueleto de um objeto a partir de seu diagrama de Voronoi. (B) - Transformada de distância de um objeto, onde as cores mais quentes denotam maior distância das bordas e conseqüentemente maior chance do píxel pertencer ao esqueleto. (C) - Aplicação do afinamento topológico em uma imagem binária. Fonte: Próprio autor.

### 2.3.3 Afinamento topológico e suas aplicações em vasos sanguíneos

Algoritmos de afinamento topológico vêm sendo usados com sucesso em estudos que realizam a morfometria de vasos sanguíneos. Para nosso trabalho, optou-se por utilizar o algoritmo de Palàgyi e Kuba (1998), dado o seu comprovado sucesso em gerar esqueletos de qualidade para descrever diversas características em sistemas de vasos sanguíneos, como número de bifurcações, densidade, comprimento, e tortuosidade (LACOSTE et al., 2014; WÄLCHLI et al., 2017; OUELLETTE et al., 2020).

O algoritmo proposto por Palàgyi e Kuba (1998) faz parte de uma categoria de métodos de afinamento topológico denominada *algoritmos sequenciais de borda*. Nessa categoria de algoritmos, o esqueleto de um objeto é obtido a partir da inspeção dos pontos de borda de uma imagem binária, onde os chamados *pontos simples* são eliminados à medida em que a vizinhança  $3 \times 3 \times 3$  de determinado ponto  $p$  respeita um certo conjunto de regras.

Uma imagem 3D binária pode ser definida como uma quádrupla  $\mathcal{P} = (\mathbb{Z}^3, m, n, B)$ , onde cada elemento de  $\mathbb{Z}^3$  é denominado um vóxel de  $\mathcal{P}$ ,  $(m, n)$  é um par de adjacências que determina a vizinhança de um vóxel,  $B \subseteq \mathbb{Z}^3$  é o conjunto dos vóxeis denominados *pontos pretos*, e  $\mathbb{Z}^3 \setminus B$  define o conjunto dos vóxeis denominados *pontos brancos*. Atribuindo o valor 0 aos pontos brancos, e o valor 1 aos pontos pretos, temos que o conjunto de pontos pretos define um objeto  $\mathcal{O}(\mathcal{P})$ , enquanto o conjunto de pontos brancos representa o fundo da imagem.

Um ponto preto é considerado um *ponto de borda* caso qualquer um de seus 6 vizinhos mais próximos seja um ponto branco. Essa abordagem é demonstrada graficamente pela Figura 2.8: os 6 vóxeis mais próximos de  $p$  (*distância*  $\leq 1$ ) podem ser indexados por suas

direções – **U**: cima; **D**: baixo; **N**: norte; **S**: sul; **E**: leste; **W**: oeste. Dessa forma, caso um vóxel  $p$  seja um ponto preto, e seu vizinho **U** seja um ponto branco, diz-se que  $p$  é um ponto de borda-**U**. O mesmo vale para todas as outras direções.

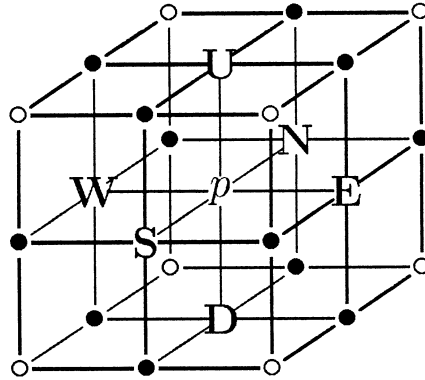


Figura 2.8 – Vizinhança de um ponto  $p \in \mathbb{Z}^3$ . Os pontos indexados pelas direções **U**, **D**, **N**, **S**, **E** e **W**, fazem parte da vizinhança-6 de  $p$ . Os pontos indicados em preto adicionados aos anteriores definem a vizinhança-18 de  $p$ . Por fim, a adição dos pontos indicados em branco aos conjuntos anteriores definem a vizinhança-26 de  $p$ . Retirado de Palàgyi e Kuba (1998).

Um *ponto simples* é definido como um ponto de borda que se excluído, ou seja, se transformado em um ponto branco, não altera a topologia de  $\mathcal{O}(\mathcal{P})$ . Há um conjunto de regras que determinam se dado ponto é simples ou não, e essas podem ser condensadas em um conjunto de máscaras que extraem as características da vizinhança de  $p$ . No trabalho de Palàgyi e Kuba (1998), é definido um conjunto de seis máscaras básicas de tamanho  $3 \times 3 \times 3$  vóxeis para cada direção de borda.

A Figura 2.9 exhibe as máscaras M1-M6 responsáveis pela detecção de pontos simples na direção **U**: pontos de valor 1 devem ser obrigatoriamente pontos pretos; pontos de valor 0 devem ser pontos brancos; ao menos um ponto de valor “x” deve ser preto; e por fim, pontos marcados como “.” podem apresentar qualquer valor. Para garantir invariância à rotação, cada uma das máscaras básicas é rotacionada verticalmente em  $90^\circ$ ,  $180^\circ$  e  $270^\circ$ , totalizando 24 máscaras para cada direção. Quanto às outras cinco direções (**D**, **N**, **S**, **E** e **W**), as mesmas máscaras M1-M6 são utilizadas, porém rotacionadas na respectiva direção. Portanto, no total,  $24 \times 6 = 144$  máscaras são utilizadas no processo de afinamento topológico.

Caso a vizinhança de  $p$  corresponda a alguma das 144 máscaras do método, o ponto é considerado simples e pode ser excluído sem alterar a topologia do objeto. Formalmente, considere  $\mathcal{T}(X, \mathcal{D})$  como sendo a exclusão de pontos simples de uma matriz binária  $X$  para determinada direção  $\mathcal{D}$ . Assim, o algoritmo de afinamento topológico de Palàgyi e Kuba (1998) é definido como:



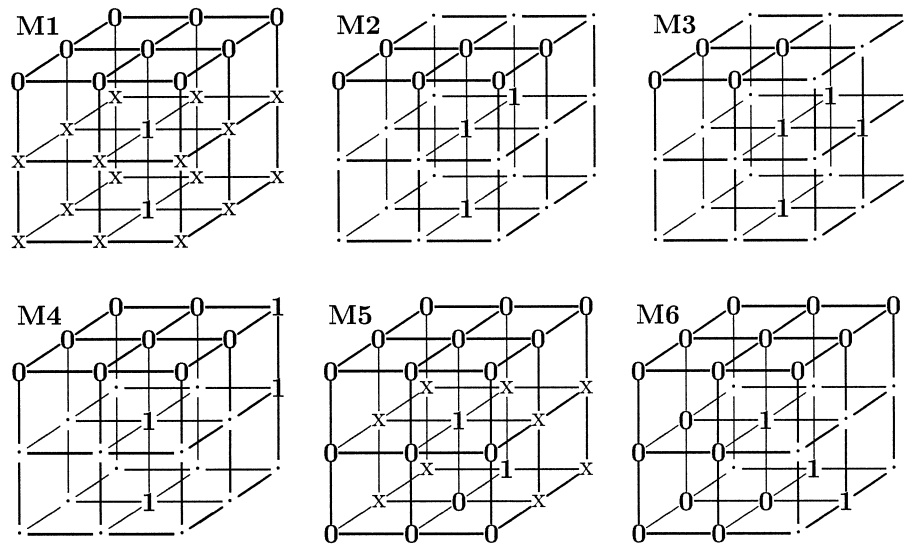


Figura 2.9 – Máscaras básicas para a remoção de pontos de borda-U simples. Retirado de Palàgyi e Kuba (1998).

---

**Algoritmo 1** Afinamento topológico de Palàgyi e Kuba (1998)

---

**Entrada:** Matriz binária  $X$  representando a imagem  $\mathcal{P}$

**Resultado:** Matriz binária  $Y$  representando o esqueleto do objeto

**início**

$Y = X;$

**repita**

$Y = \mathcal{T}(Y, \mathbf{U});$

$Y = \mathcal{T}(Y, \mathbf{D});$

$Y = \mathcal{T}(Y, \mathbf{N});$

$Y = \mathcal{T}(Y, \mathbf{S});$

$Y = \mathcal{T}(Y, \mathbf{E});$

$Y = \mathcal{T}(Y, \mathbf{W});$

**até** não haver mais pontos a serem deletados;

**fim**

---

## 2.4 Segmentação utilizando métodos de aprendizado profundo

### 2.4.1 Aprendizado de máquina e redes profundas

O aprendizado de máquina (AM) pode ser descrito como uma categoria de algoritmos que permitem ao computador extrair padrões de dados e adquirir por si próprio conhecimento acerca de determinado problema. Embora tenha recebido atenção especial nos últimos anos, esse tópico já é estudado desde a década de 40, tendo passado por alguns altos e baixos em relação à popularidade com a comunidade científica. A perda de popularidade mais notável se deu no meio da década de 90, e ocorreu principalmente pelo



desapontamento de investidores quando o AM não cumpriu as expectativas irrealísticas que se tinham na época. Porém, o considerável aumento dos recursos computacionais, aliado à quantidade massiva de dados gerada pelo mundo moderno, forneceu o cenário ideal para o desenvolvimento atual dessa área (GOODFELLOW; BENGIO; COURVILLE, 2016).

Algoritmos de AM são frequentemente utilizados em tarefas de classificação. Formalmente, considerando que temos  $k$  categorias de interesse, um método de classificação tem como saída uma função  $f : \mathbb{R}^n \rightarrow \{1, \dots, k\}$ . Assim,  $y = f(\vec{x})$  atribui uma categoria  $y$  a um vetor de entrada  $\vec{x}$  (GOODFELLOW; BENGIO; COURVILLE, 2016). A segmentação de imagens também pode ser observada como um problema de classificação, nesse contexto,  $\vec{x}$  é um vetor de atributos que um modelo utiliza para decidir a qual dos  $k$  objetos determinado píxel pertence.

Problemas de classificação e segmentação em imagens são comumente realizados por meio de descritores de características. Dessa forma, técnicas como o Histograma de Gradientes Orientados (DALAL; TRIGGS, 2005), Saco de Palavras Visuais (FEI-FEI; PERONA, 2005) e SIFT (LOWE, 2004) podem ser utilizadas para a extração de características pertinentes ao problema. O vetor de características proveniente desses métodos pode então ser submetido a um classificador para obter sua categoria  $y = f(\vec{x})$ . Um dos problemas dessa abordagem é a dificuldade de extrair características que realmente descrevam o objeto de interesse. Por exemplo, para realizar o reconhecimento de um carro vermelho em uma imagem, poderíamos usar como características as informações que nós, como humanos, usamos para identificá-lo, como sua cor, textura, bordas, cantos, etc. Contudo, esses descritores são sensíveis a diversas variáveis do mundo real, assim, a cor vermelha do carro pode tornar-se mais semelhante ao preto para imagens noturnas; as bordas do carro por sua vez, variam conforme o movimento do objeto em relação ao observador. Isso nos leva a considerar um fator muito importante: os melhores descritores para a maioria dos problemas em AM podem não ser intuitivos, ou seja, um objeto pode ser melhor caracterizado por um conjunto de descritores que não fazem sentido ao olho humano, mas quando combinados, fornecem uma boa descrição matemática do que de fato é um carro vermelho (GOODFELLOW; BENGIO; COURVILLE, 2016).

Obter descritores relevantes a partir de dados não tratados é uma tarefa muito complicada, por isso, é cada vez mais popular o uso dos modelos de AP para resolver problemas de classificação. Nesses modelos, os melhores descritores de um problema são aprendidos pelo próprio classificador, ao invés de serem selecionados manualmente. Nesse quesito, o trabalho de Krizhevsky, Sutskever e Hinton (2012) popularizou um dos métodos de AP mais utilizados atualmente, as Redes Neurais Convolucionais (CNN, do inglês *Convolutional Neural Networks*).

De maneira simplificada, CNNs são classificadores que fazem uso de sucessivas operações de convolução para selecionar os descritores de um problema. A arquitetura padrão de uma

CNN é organizada em diversas camadas alinhadas compostas por  $N$  filtros de convolução, de modo que cada camada da rede receba como entrada o vetor de atributos proveniente da camada anterior (tamanho  $M$ ), e mapeie essa entrada para um outro vetor de tamanho  $M \times N$ . Dito isso, o trabalho de uma CNN é otimizar os filtros de cada operação de convolução, de maneira que a saída da rede obtenha o melhor resultado possível segundo um critério pré-definido.

O que torna as CNNs tão poderosas é a capacidade de representar um problema complexo com base em várias representações mais simples. Isso porque cada camada de filtros, possui um nível de abstração diferente, que depende da resposta de todas as outras camadas anteriores à ela. Assim, ao observar cada camada de convolução de uma rede, notamos que a complexidade das estruturas que ativam seus neurônios tendem a aumentar progressivamente. Por exemplo, o trabalho Olah, Mordvintsev e Schubert (2017) demonstrou a evolução das estruturas reconhecidas pela rede GoogLeNet após treinamento. Os autores definiram uma técnica para visualizar o comportamento de certos neurônios através da geração de imagens de entrada que provocam a maior resposta possível do neurônio. Um exemplo de resultado obtido é mostrado na Figura 2.10. Nota-se que nas primeiras camadas o modelo reconhece basicamente estruturas simples, como pontos, bordas cantos e círculos; e essas estruturas vão ficando mais complexas nas camadas mais profundas da rede, sendo possível reconhecer visualmente alguns objetos do nosso cotidiano.

Abaixo, apresentaremos uma das arquiteturas de AP mais utilizadas para segmentação de imagens, que inclusive foi utilizada por nós nos experimentos apresentados na Seção 4.5.

## 2.4.2 Arquitetura U-Net

A U-Net é um modelo de rede neural criado para segmentação de imagens. Publicado por Ronneberger, Fischer e Brox (2015), venceu o concurso *ISBI Cell Tracking Challenge* de 2015. Como mostra a Figura 2.11, a arquitetura da rede possui esse nome pelo seu formato que lembra a letra “U”. A parte esquerda desse “U” representa o caminho de contração da rede, também chamado de codificador, e a parte direita consiste no caminho de expansão, ou decodificador.

O caminho de contração da rede recebe como entrada uma imagem de  $572 \times 572$  píxeis, com 1 canal (intensidade), e a mapeia para um descritor de  $32 \times 32$  píxeis, com 1024 canais de características. Essa contração é feita por meio de repetidas operações de convolução por filtros de  $3 \times 3$  píxeis, seguidas pela aplicação da função de ativação ReLU (*Rectified Linear Unit*, inglês para “Unidade Linear Retificada”). A cada duas operações de convolução e ReLU, a saída tem cada um de seus canais re-amostrados para um quarto do tamanho original por meio de uma operação de *max pooling* de  $2 \times 2$  píxeis, com *stride* de também 2 píxeis. Nota-se pelo diagrama da arquitetura que, a cada operação



Figura 2.10 – Evolução das estruturas reconhecidas por cada neurônio em uma CNN. (A e B) - Nas primeiras camadas da rede, usualmente são reconhecidas apenas estruturas simples e mais gerais, como pontos, bordas, cantos e círculos. (C) - As camadas centrais da rede são frequentemente ativadas por partes de objetos mais reconhecíveis pelo ser humano. (D e E) - Ao final dessa rede os neurônios possuem maior poder de abstração, reconhecendo estruturas mais complexas, como árvores, bolas e instrumentos de sopro em geral. Adaptado de Olah, Mordvintsev e Schubert (2017).

de convolução, perdem-se os píxeis pertencentes à borda da imagem. Isso se dá pelo fato de que no artigo original, os autores optaram por utilizar convoluções sem *padding*. Há implementações atuais na literatura que realizam convoluções com *padding* para preservar o tamanho original da entrada (LIAN et al., 2018).

O caminho expansivo da U-Net é basicamente o inverso da etapa anterior. Cada passo do decodificador consiste em primeiro aplicar uma convolução transposta por um filtro de  $2 \times 2$  píxeis, com o objetivo de aumentar o número de descritores em quatro vezes e ao mesmo tempo diminuir o número de canais pela metade. Em seguida, uma operação de recorte e concatenação copia parte do mapa de características presente na camada correspondente do codificador, e concatena ao obtido pela operação de convolução transposta. De maneira semelhante ao codificador da rede, mais duas operações de convolução  $3 \times 3$  e ReLU são aplicadas para cada passo. Isso é feito até que haja um descritor de  $388 \times 388$  píxeis e 64 canais de características. Por fim, uma convolução de

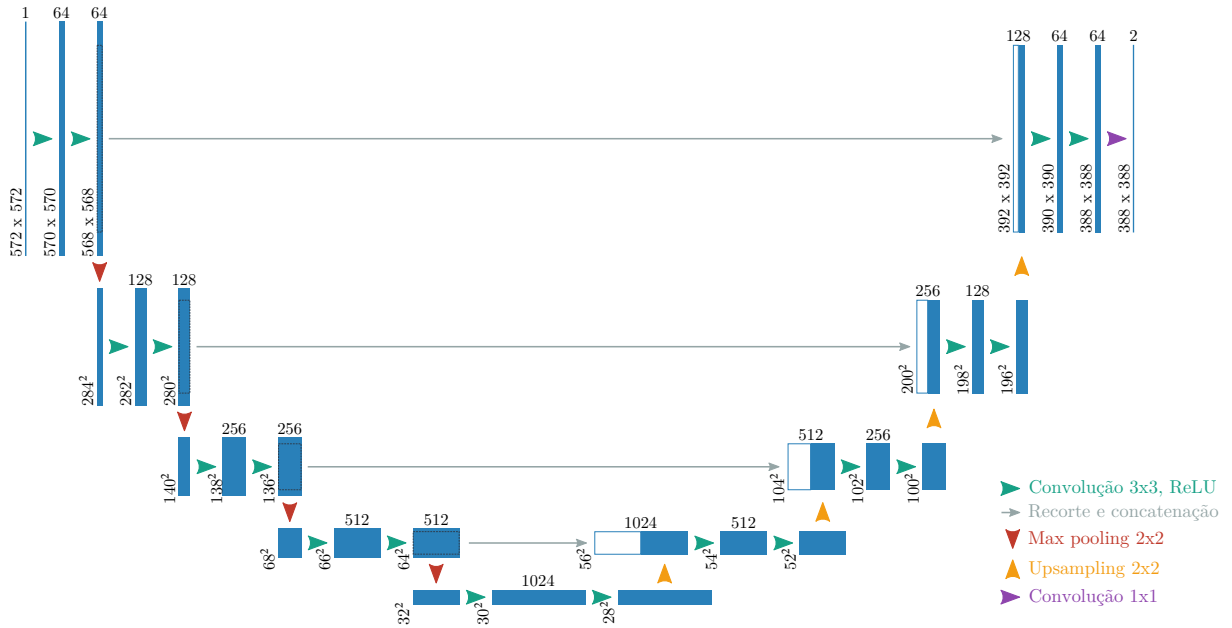


Figura 2.11 – Arquitetura U-Net. Fonte: Próprio autor.

$1 \times 1$  píxel é aplicada ao descritor final para mapear os 64 canais para o número de classes desejadas, no caso da figura, duas.

Para o treinamento, os autores utilizaram como função de custo uma combinação da função softmax aplicada a cada píxel do mapa final de características, com a função de entropia cruzada. Uma softmax é definida como:

$$p_k(x) = \frac{\exp(a_k(x))}{\sum_{k'=1}^K \exp(a_{k'}(x))}, \quad (2.17)$$

onde  $K$  é o número de classes, e  $a_k(x)$  é o valor da ativação da classe  $k$  para a posição  $x \in \Omega$ , com  $\Omega \subset \mathbb{Z}^2$  – basicamente  $x$  é uma posição de uma imagem 2D. Em um cenário que há uma boa classificação para o píxel de posição  $x$ ,  $p_k(x) \approx 1$  para a classe  $k$  que possua maior ativação  $a_k(x)$  e  $p_k(x) \approx 0$  para todas as outras classes. Assim, sendo  $\ell : \Omega \rightarrow \{1, \dots, K\}$  a classe real a qual o píxel pertence, a função de custo da rede pode ser definida pela somatória da entropia cruzada calculada para todos os píxeis de uma imagem:

$$E = \sum_{x \in \Omega} w(x) \log(p_{\ell(x)}(x)), \quad (2.18)$$

onde  $w : \Omega \rightarrow \mathbb{R}$  é um mapa de pesos que pode ou não ser aplicado à imagem caso deseje-se dar mais importância a determinados píxeis.

### 2.4.3 Redes neurais residuais

Como dito anteriormente, o poder das CNNs está justamente no fato de criar representações complexas por meio das combinações de representações mais simples, obtidas através de várias camadas alinhadas de neurônios. Dessa maneira, é comum pensar que a qualidade de uma classificação está diretamente ligada à profundidade de uma rede. Pensando nisso, o trabalho de He et al. (2016) estuda o desempenho de CNNs ao passo em que mais camadas de convolução são adicionadas.

Nesse estudo, foi apontado pelos autores que o aumento do número de camadas em uma rede estava frequentemente associado ao aumento do erro de treinamento, o que contraria o pensamento anterior. Porém, considere duas redes diferentes: uma com menos camadas, e a outra equivalente à primeira, porém com camadas adicionais. Caso haja uma boa solução para a rede mais rasa, sua equivalente mais profunda não deveria levar a um maior erro de treinamento, visto que a solução para a mesma seria copiar as camadas mais rasas da primeira rede, e definir as camadas mais profundas como operações de identidade ( $f(x) = x$ ). Isto posto, os autores levantaram a hipótese de que seria complicado para uma rede com muitas camadas não-lineares aprender essa função de identidade para as camadas mais profundas. Para contornar isso, criaram o chamado bloco residual.

Como demonstrado na Figura 2.12, um bloco residual é um mecanismo que permite a uma rede profunda aprender a otimizar mais facilmente essas funções identidade quando necessário. Sua definição formal pode ser escrita como:

$$y = \mathcal{F}(x, \{W_i\}) + x, \quad (2.19)$$

onde  $\mathcal{F}(x, \{W_i\})$  representa o *mapeamento residual* a ser aprendido por um bloco da rede constituído pelo conjunto de camadas de convolução  $\{W_i\}$ . Seu funcionamento se baseia no fato de que, considerando um mapeamento desejado para um bloco da rede  $\mathcal{H}(x)$ , caso haja uma função  $\mathcal{F}(x)$  que aproxime esse mapeamento, também há uma função que aproxime o mapeamento residual  $\mathcal{H}(x) - x$ . Assim, o bloco residual faz com que o modelo otimize a função  $\mathcal{F}(x) + x = \mathcal{H}(x)$ . A justificativa para essa abordagem é que seria hipoteticamente mais fácil para o bloco da rede aproximar  $\mathcal{H}(x)$  a uma operação de identidade caso necessário, zerando os pesos das camadas de convolução de modo que  $\mathcal{F}(x) \approx 0$ .

A hipótese dos autores foi testada empiricamente com a criação de redes residuais de até 152 camadas – oito vezes maiores que o estado da arte na época. Mesmo com essa profundidade, as redes residuais (ou ResNets), demonstraram maior facilidade de otimização, e um bom ganho na acurácia conforme aumentam-se o número de camadas de convolução. Ainda, experimentos posteriores demonstraram que a utilização de blocos residuais suaviza a curva de erro para treinamento de redes mais profundas, o que facilita o trabalho de algoritmos de otimização como o Gradiente Descendente Estocástico (LI et

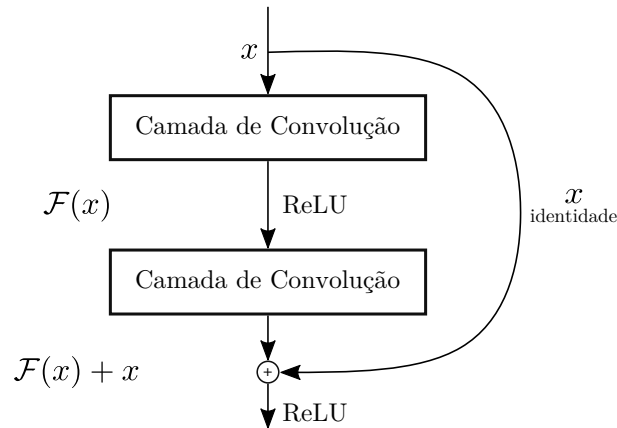


Figura 2.12 – Modelo de bloco residual para redes convolucionais. Adaptado de He et al. (2016).

al., 2017).

## 2.5 Transformação elástica

Grande parte dos trabalhos que usam AP possuem dificuldade com o número de dados anotados disponíveis. Tal problema motivou o desenvolvimento de várias técnicas de aumento de dados, visando incrementar o conjunto de dados disponível por meio de transformações aplicadas ao dado original (SHORTEN; KHOSHGOFTAAR, 2019). Em nosso trabalho, mais especificamente nos experimentos apresentados na Seção 4.5.2.4, utilizamos transformações elásticas para o aumento do conjunto de dados utilizado na otimização de redes especializadas em segmentar vasos tortuosos.

A transformação elástica (SIMARD; STEINKRAUS; PLATT, 2003) é uma deformação em uma imagem criada por meio do sorteio de *campos de deslocamento aleatórios*. Assim, para cada píxel de uma imagem 2D, os campos de deslocamento verticais ( $\Delta_x$ ) e horizontais ( $\Delta_y$ ) são definidos pelo sorteio de um número aleatório entre -1 e 1, gerados a partir de uma distribuição uniforme. Posteriormente, os campos ( $\Delta_x$ ) e ( $\Delta_y$ ) são convoluídos com uma gaussiana de desvio padrão  $\sigma$ . Nesse caso,  $\sigma$  funciona como um coeficiente de elasticidade. Quando  $\sigma \approx 0$ , o resultado da transformação deriva de campos de deslocamento completamente aleatórios. Porém, quando  $\sigma$  é aumentado um pouco, obtêm-se um efeito adequado de deformação elástica que simula bem um vaso naturalmente tortuoso. Por fim, os campos de deslocamento  $\Delta_x$  e  $\Delta_y$  são multiplicados por um fator de escala  $\alpha$  que controla a intensidade da transformação. Em nossos experimentos, notamos que uma boa abordagem para transformar nossa base de dados é fixar o valor de  $\sigma$  e variar  $\alpha$ , já que a tortuosidade artificial mostrou-se bastante sensível à variações de  $\sigma$ . A Figura 2.13 exibe alguns exemplos de imagens após serem submetidas à transformação elástica, usando diferentes valores de  $\alpha$ .



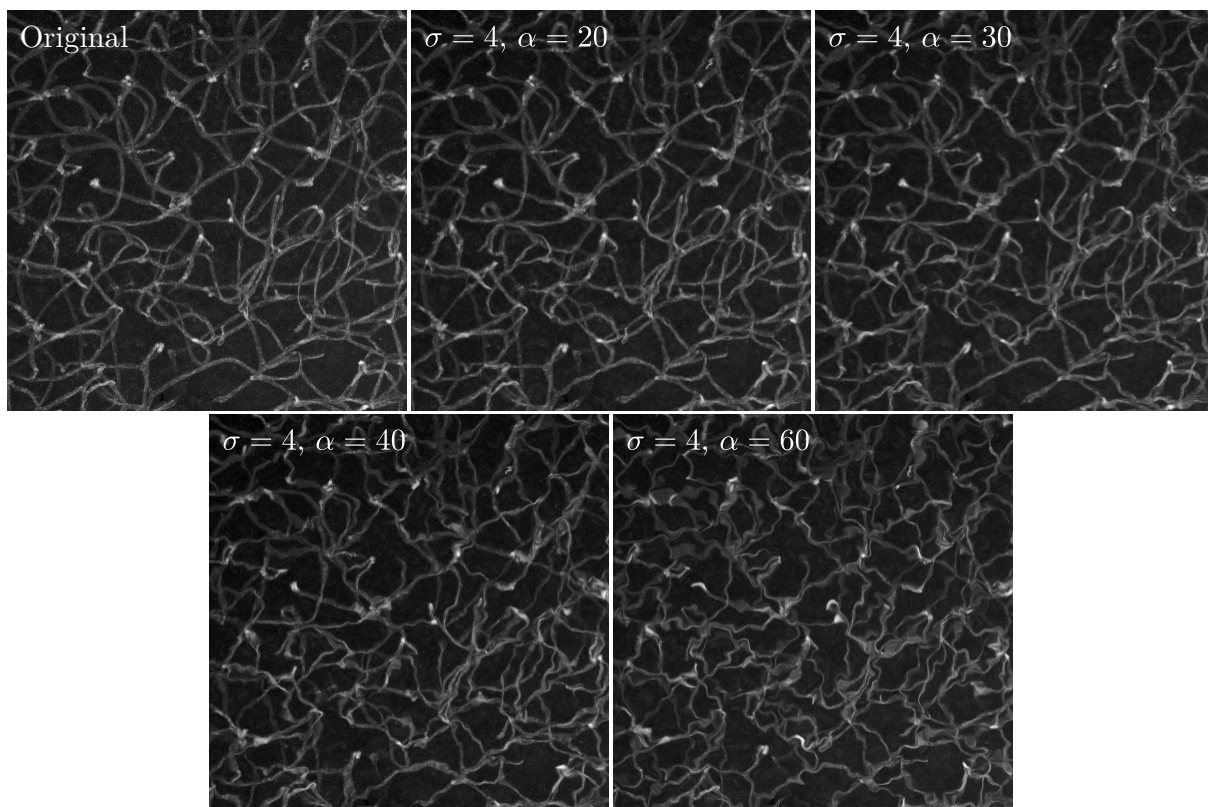


Figura 2.13 – Resultado da aplicação de transformações elásticas em uma imagem de vasos sanguíneos, utilizando diferentes valores de  $\alpha$ .

---

## Capítulo 3

# Revisão Bibliográfica

---

*Neste capítulo, apresentamos uma ampla revisão da bibliografia no que se refere à técnicas de medição de tortuosidade em vasos sanguíneos. Além de métricas para quantificar a tortuosidade, discorreremos sobre tipos de tortuosidade que podem ser encontrados em vasos sanguíneos. Por fim, também expomos alguns trabalhos mais recentes que tratam da segmentação de vasos por aprendizado profundo.*

### 3.1 Cálculo de tortuosidade em vasos sanguíneos

#### 3.1.1 Definições e métodos clássicos

Há na literatura diversas definições sobre o que de fato configura um vaso sanguíneo tortuoso. Smedby et al. (1993) definem a tortuosidade de um vaso como sendo uma agregação das curvaturas ao longo do mesmo. Já para Grisan, Foracchia e Ruggeri (2008) a tortuosidade é indicada simplesmente pela aparência não suave de um vaso. Dentre essas definições, nenhuma pode ser tomada como a mais correta para todas as situações, visto que o conceito de tortuosidade pode mudar devido a alguns fatores, como o tipo de patologia estudada ou o tipo de imageamento utilizado.

Uma das primeiras definições quantitativas de tortuosidade em vasos sanguíneos foi descrita por Lotmar, Freiburghaus e Bracher (1979). Nesse trabalho, os autores decompueram manualmente os vasos sanguíneos obtidos em retinografias, descrevendo-os como uma série de arcos  $h_i$  e linhas  $l_i$  (Figura 3.1 - A). Esse método visa a aproximação do valor de tortuosidade de um vaso pela chamada *variação relativa de comprimento* (VRC), partindo do pressuposto de que um vaso sanguíneo tortuoso é mais longo que uma reta traçada entre seu ponto inicial  $t_0$  e final  $t_1$ . Assim, sendo  $L$  o comprimento do vaso e  $l$  e comprimento da reta que une  $t_0$  e  $t_1$ , a tortuosidade de um vaso pode ser definida de



maneira simples por  $\frac{L-l}{l}$ . Usando a abordagem de arcos e linhas, Lotmar, Freiburghaus e Bracher (1979) definiram uma maneira simplificada de calcular a VRC manualmente, por meio da aproximação:

$$\frac{L-l}{l} \approx \frac{8}{3} \sum_i \left( \frac{h_i}{l_i} \right)^2. \quad (3.1)$$

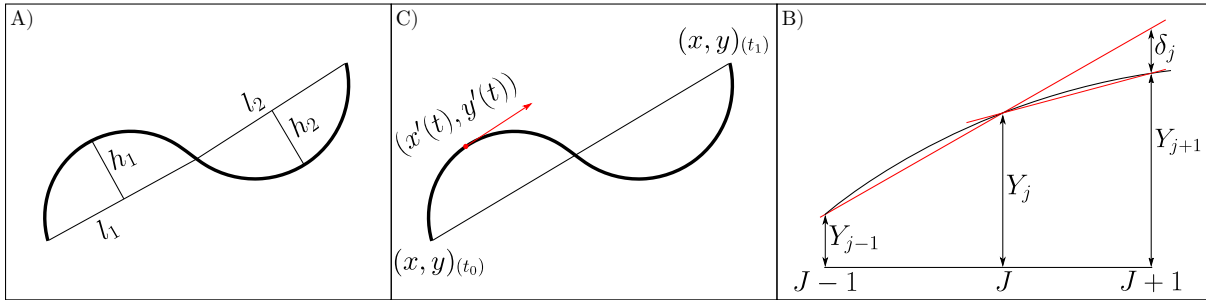


Figura 3.1 – Algumas medidas simples de tortuosidade 2D que podem ser encontradas na literatura. (A) *Variação relativa de comprimento*; medida proposta por Lotmar, Freiburghaus e Bracher (1979) que visa por meio de um conjunto de arcos e linhas, aproximar a variação do comprimento de um vaso em relação a uma linha reta, estimando assim sua tortuosidade. Em (B), de forma semelhante à (A), o vaso é dividido entre um arco e uma linha entre seu ponto inicial  $t_0$  e final  $t_1$ . Porém agora, o comprimento exato da curva pode ser obtido pela integração das derivadas primeiras dos pontos entre  $t_0$  e  $t_1$ . Em (C), a tortuosidade de um vaso é calculada pelas diferenças segundas na vizinhança de um pixel, essa abordagem é análoga ao cálculo das derivadas de segunda ordem. Fonte: Próprio autor.

Com a evolução do poderio computacional, técnicas de morfometria automatizada de vasos sanguíneos se tornaram possíveis, e juntamente com elas, novas medidas de tortuosidade puderam ser analisadas. A possibilidade de esqueletização dos vasos tornou possível o cálculo de medidas baseadas nas integrais e nas derivadas das curvas (SMEDBY et al., 1993; HART et al., 1999; DOUGHERTY; VARRO, 2000; GRISAN; FORACCHIA; RUGGERI, 2008; WILSON et al., 2008). As primeiras medidas automáticas de tortuosidade se baseavam na VRC, no entanto, ao invés de uma aproximação, o comprimento da curva agora poderia ser obtido com exatidão pela integração do esqueleto do vaso.

Hart et al. (1999), decompuseram os vasos sanguíneos em duas estruturas primárias (Figura 3.1 - B): uma linha traçada entre seu ponto inicial  $t_0$  e final  $t_1$ , e a curva real do vaso sanguíneo composta pela linha central do mesmo, que de maneira discreta, é definida pelo seu esqueleto. O comprimento da linha (*chord*) traçada entre  $t_0$  e  $t_1$ , é definido pela distância euclidiana entre os pontos:

$$\text{chord}(C) = \sqrt{(x(t_1) - x(t_0))^2 + (y(t_1) - y(t_0))^2}. \quad (3.2)$$

A derivada primeira de uma curva define a taxa de crescimento (ou velocidade instantânea) da mesma em relação a uma variável (GUIDORIZZI, 2001). Dessa forma, o comprimento de um vaso pode ser obtido pela integração das derivadas primeiras de sua linha central em relação ao parâmetro  $t$ :

$$s(C) = \int_{t_0}^{t_1} \sqrt{x'(t)^2 + y'(t)^2} dt, \quad (3.3)$$

onde  $x'$  e  $y'$  correspondem às derivadas de primeira ordem de  $x$  e  $y$  respectivamente.

Com essas definições, pode-se estipular uma medida básica de tortuosidade que é muito utilizada na literatura, chamada de *fator de distância*. Nela, a tortuosidade de um vaso é definida pela razão  $\frac{s(C)}{\text{chord}(C)-1}$  (SMEDBY et al., 1993; HART et al., 1999). Em parte, essa abordagem é correspondente à VRC, uma vez que considera-se um vaso tortuoso como um caminho sinuoso em comparação a uma reta entre dois pontos.

De maneira mais robusta, a tortuosidade de um vaso também pode ser definida pela agregação das curvaturas em sua linha central (SMEDBY et al., 1993; HART et al., 1999). Para isso, define-se a curvatura em determinado ponto  $t$  de uma função paramétrica como:

$$\kappa(t) = \frac{x'(t)y''(t) - x''(t)y'(t)}{[y'(t)^2 + x'(t)^2]^{\frac{3}{2}}}, \quad (3.4)$$

com  $x''$  e  $y''$  correspondendo às derivadas de segunda ordem de  $x$  e  $y$  respectivamente.

O cálculo de  $\kappa(t)$  abre um leque maior de possibilidades de medidas. Em geral, elas são baseadas em duas quantias básicas:

$$tc(C) = \int_{t_0}^{t_1} |\kappa(t)| dt \quad tsc(C) = \int_{t_0}^{t_1} \kappa(t)^2 dt \quad (3.5)$$

onde  $tc(C)$  e  $tsc(C)$  representam a agregação de  $\kappa(t)$  na extensão do vaso. Ambas  $tc(C)$  e  $tsc(C)$  são semelhantes, porém a última tende a dar maior peso a regiões de curvatura mais acentuada (HART et al., 1999).

Essa abstração de um vaso sanguíneo foi utilizada por Hart et al. (1999) para definir sete medidas diferentes de tortuosidade, utilizando os termos supracitados. Heneghan et al. (2002) também utilizam o fator de distância para o cálculo de tortuosidade. Grisan, Foracchia e Ruggeri (2008) usam o valor de  $\kappa(t)$  para detectar mudanças na convexidade do vaso e elaborar um novo método para medição de tortuosidade. Uma outra abordagem interessante é descrita no trabalho de Dougherty e Varro (2000), em que os autores realizam o cálculo de tortuosidade com uma metodologia análoga ao uso de derivadas de segunda ordem, porém utilizando as diferenças segundas do esqueleto do vaso. A Figura 3.1 - C exibe essa abordagem de uma maneira gráfica. Na figura,  $\delta_j$  é dado pela diferença dos gradientes de dois segmentos de reta, isto é,  $\delta_j = (Y_j - Y_{j-1}) - (Y_{j+1} - Y_j)$ .

Algumas considerações devem ser feitas antes de escolher a medida mais adequada de tortuosidade, e essas estão diretamente ligadas às patologias que se deseja estudar.

Han (2012) demonstra em seu trabalho alguns dos tipos mais comuns de tortuosidade que podem ser encontrados na literatura (Figura 3.2). São eles: os vasos curvos, definidos por vasos sinuosos em toda sua extensão; os vasos angulados, definidos por vasos que exibem troca abrupta de direção; os loops, que apresentam forma de laço e cruzam-se quando projetados em 2D; e por último os vasos *saca-rolhas*, que podem ser definidos como estruturas helicoidais, ou até mesmo um conjunto de loops.

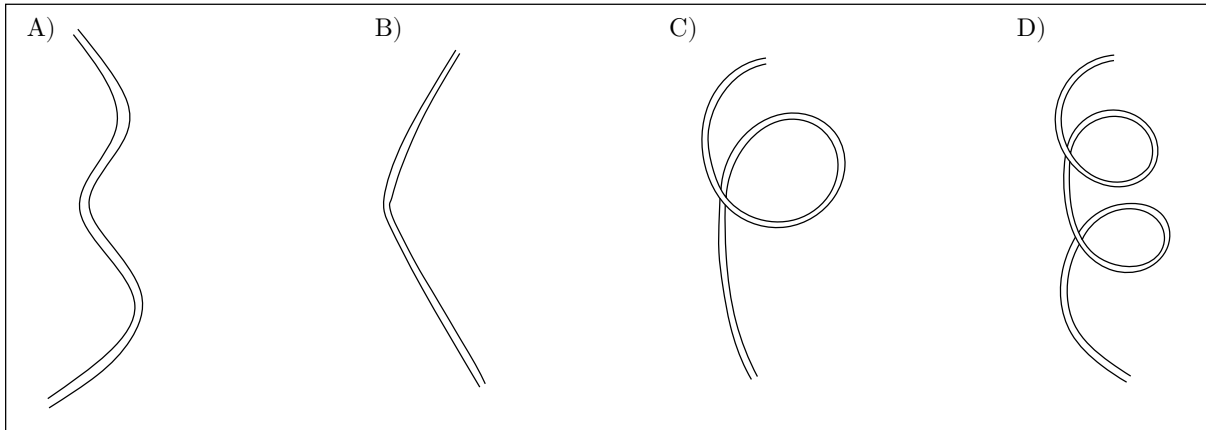


Figura 3.2 – Alguns tipos diferentes de tortuosidade que podem ser encontrados em vasos sanguíneos. (A) Vaso de aparência curva. (B) Vaso angulado. (C) Vaso que apresenta um loop. (D) Um vaso em formato *saca-rolhas*, que possui forma helicoidal. Adaptado de Han (2012).

É importante salientar que um vaso sanguíneo não possui exclusivamente uma das estruturas definidas acima, e de fato, pode apresentar mais de uma anomalia em sua extensão. Desse modo, Bullitt et al. (2003) classificam a tortuosidade de vasos sanguíneos entre tipos I, II e III. A tortuosidade de tipo I pode ser definida basicamente por vasos curvos, com forma de “S” ou “U”. Os vasos que possuem o tipo I de tortuosidade, tendem a ter curvatura ( $\kappa(t)$ ) baixa em qualquer ponto em sua extensão, porém comprimento grande quando comparado a uma linha reta traçada entre seu ponto inicial e final. Os vasos com tortuosidade de tipo II são caracterizados por pertencer a pequenos aglomerados e apresentarem mudanças abruptas de direção. Esses tipos de vasos podem ser encontrados no interior de tumores altamente vascularizados e em meio a conjuntos de vasos que desenvolveram malformação arteriovenosa. Por último, os vasos com tortuosidade de tipo III são caracterizados por sua forma espiral, ou como já foi dito, *saca-rolhas*, termo adotado neste trabalho. Pode parecer que esses três tipos de tortuosidade são facilmente explicados pelas definições de Han (2012) (Figura 3.2), porém, há várias possibilidades de combinação entre essas simples formas. Um exemplo disso é um vaso com tortuosidade de tipo III, que além de apresentar um formato de *saca-rolhas*, também pode ter uma região reta, ou sinuosa (BULLITT et al., 2003).

### 3.1.2 Princípio da composicionalidade e análise da hemodinâmica do vaso

Como pôde ser observado na Seção 2.1, as imagens utilizadas em nosso trabalho retratam regiões que possuem sistemas complexos formados por pequenos vasos sanguíneos. Em grande parte, esses tipos de vasos apresentam naturalmente a tortuosidade de tipo I, dessa forma, qualquer alteração anormal nessa rede seria mais perceptível ao analisar as tortuosidades de tipo II ou III. Dito isso, um outro conceito importante que deve ser levado em consideração nesse trabalho é o *princípio da composicionalidade*, definido por Hart et al. (1999). Para os autores, a composicionalidade entre dois vasos determina que a união de dois vasos tortuosos deve gerar um terceiro vaso com nível de tortuosidade entre o de seus dois genitores. Da mesma forma, quando dois vasos de tortuosidades iguais são unidos, o novo vaso gerado deve ter um nível de tortuosidade igual ao de seus genitores. Ou seja, dado dois segmentos de vaso A e B, e suas tortuosidades  $\tau(A) \geq \tau(B)$ , a condição

$$\tau(A) \geq \tau(A + B) \geq \tau(B) \quad (3.6)$$

deve ser satisfeita.

Um problema relacionado ao uso do princípio da composicionalidade é a subestimação de um segmento tortuoso por conta de seu comprimento. Um exemplo disso é demonstrado na Figura 3.3. Considere um segmento de vaso quase reto, que possua em sua extensão uma estrutura em formato de saca-rolhas (Figura 3.3 - C). Tal vaso C pode ser definido pela união de dois segmentos: A e B. Uma medida que utiliza o princípio da composicionalidade terá que normalizar a curvatura de C pelo seu comprimento para satisfazer 3.6. Caso  $\tau(A) \gg \tau(B)$ , o valor de tortuosidade de C será drasticamente diminuído por conta de sua grande porção reta, mesmo havendo uma região em forma de saca-rolhas prejudicando o fluxo sanguíneo (CIURICĂ et al., 2019). Segundo Eze, Gupta e Newman (2000), se a tortuosidade de um vaso é utilizada como um indicador de alterações na hemodinâmica, *i.e.* na circulação do sangue, medidas que levem em consideração a mudança no fluxo sanguíneo, provavelmente serão mais informativas. Dessa forma, é preferencial o uso de medidas de tortuosidade que relevem o comprimento do vaso e foquem mais no dano que determinadas estruturas causam à circulação.

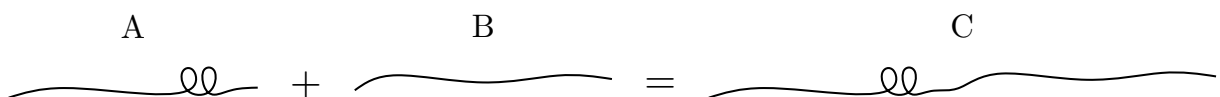


Figura 3.3 – Exemplificação da composicionalidade de um vaso sanguíneo. Nesse caso, dois segmentos de vaso A e B, compõem um terceiro segmento C. Para satisfazer 3.6, o valor de  $\tau(C)$  será subestimado a medida em que  $\tau(A) \gg \tau(B)$ , mesmo com C tendo um impedimento do fluxo sanguíneo tão grande quanto o segmento A.

Métodos para a medição de tortuosidade de vasos sanguíneos em três dimensões vêm sendo desenvolvidos nas últimas duas décadas (EZE; GUPTA; NEWMAN, 2000; BULLITT et al., 2003; JOHNSON; DOUGHERTY, 2007; LANG et al., 2012; LORTHOIS; LAUWERS; CASSOT, 2014; ZHAO et al., 2018; KLIŠ et al., 2019; ZHAO et al., 2019). Em grande parte, eles utilizam conceitos de geometria diferencial que permitem a análise da hemodinâmica do vaso, ao invés de suposições feitas com base em seu comprimento. De maneira mais geral, Crenshaw, Ciampaglio e McHenry (2000) apresentam uma abordagem para representar a movimentação de qualquer partícula, fundamentando-se no fato de que seu movimento pode ser descrito por uma curva  $H(t)$  no espaço 3D, e  $H(t)$  por sua vez, pode ser definida pelo movimento de um triedro de vetores **TNB** no espaço em relação ao tempo  $t$ . **TNB** é conhecido como o triedro de Frenet, um triedro formado por três vetores unitários ortogonais  $\vec{T}, \vec{N}, \vec{B}$  no ponto  $t$  (CARMO, 1976). A Figura 3.4 mostra um exemplo de vetores **TNB** em um ponto de uma curva:  $\vec{T}$  é o vetor tangente à curva;  $\vec{N}$  é definido pela derivada de  $\vec{T}$  em relação ao comprimento de arco;  $\vec{T}$  e  $\vec{N}$  definem um plano osculador (em azul); e por fim,  $\vec{B}$  é o produto vetorial de  $\vec{T}$  e  $\vec{N}$ .

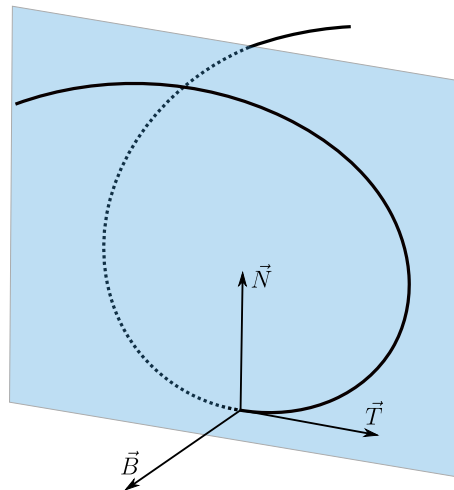


Figura 3.4 – Triedro de Frenet.  $\vec{T}$  é o vetor tangente à curva.  $\vec{N}$  é a derivada de  $\vec{T}$  em relação ao comprimento de arco.  $\vec{T}$  e  $\vec{N}$  definem um plano osculador (em azul).  $\vec{B}$  é o produto vetorial de  $\vec{T}$  e  $\vec{N}$ , e conseqüentemente, é o vetor normal do plano osculador.  $\vec{T}$  indica a curvatura da curva, enquanto a variação de  $\vec{B}$  indica sua torção. Fonte: Próprio autor.

A importância de **TNB** se dá pelo fato de que as derivadas de seus vetores representam informações importantes a respeito da trajetória de uma partícula em uma curva. Como essa curva pode ser a representação da linha central de um vaso sanguíneo, **TNB** é um bom descritor de tortuosidade. Dessa forma, para vasos 3D, pode-se obter a curvatura de  $H(t)$  pela variação de  $\vec{T}$  ao longo da curva, ou seja:  $\kappa_{3d} = \|\vec{T}'(t)\|$ . Uma curva em um espaço 3D possui mais graus de liberdade do que em um espaço 2D, com isso é possível definir a *torção* como sendo a taxa de variação de  $\vec{B}$ , isto é, a variação do plano osculador ao longo de  $H(t)$ :  $\tau = \|\vec{B}'(t)\|$ .

Ao nosso conhecimento, o primeiro trabalho a utilizar o **TNB** para a medição de tortuosidade em vasos sanguíneos é o de Bullitt et al. (2003). Nele, os vetores  $\vec{N}$  e  $\vec{B}$  são usados para a estimação de pontos de inflexão em uma curva (pontos em que o vetor  $\vec{N}$  muda de direção), aprimorando uma medida já antes publicada por Smedby et al. (1993). Tal métrica foi chamada pelos autores de ICM (*inflection count metric*), inglês para “métrica da contagem de pontos de inflexão”). Além disso, foi considerada na análise, uma segunda medida chamada pelos autores de SOAM (*sum of angles metric*), inglês para “métrica das somas dos ângulos”), que calcula a tortuosidade de um vaso por meio da soma dos ângulos entre os vetores que ligam uma certa vizinhança de pontos nesse vaso. Embora o ICM possua boa capacidade de caracterizar vasos tortuosos, a SOAM provou-se ser a melhor alternativa para a medição em vasos que possuem a tortuosidade de tipo III, uma vez que curvas em formato de saca-rolhas não possuem pontos de inflexão definidos. Esse resultado é interessante pois demonstra a importância de se observar a natureza dos dados para definir corretamente métricas e algoritmos que devem ser utilizados.

As métricas de medição de tortuosidade ICM e SOAM mostram-se relevantes até hoje, presentes em diversas publicações recentes da área de processamento digital de imagens (LANG et al., 2012; LORTHOIS; LAUWERS; CASSOT, 2014; ZHAO et al., 2018; KLIŠ et al., 2019; ZHAO et al., 2019). Porém, em diversos trabalhos específicos da área de ciências biológicas, a análise da tortuosidade de vasos sanguíneos se dá na maioria das vezes por métodos muito mais simples e fáceis de ser implementados, como o fator de distância (PRAKASH et al., 2013; WRIGHT et al., 2013; ABDELSAID et al., 2014; CHEN et al., 2019; TONGPOB et al., 2019; MA et al., 2019). Embora muitas vezes não seja declarado pelos autores o motivo da escolha, é possível que os softwares utilizados por eles possuam esses métodos já implementados, não dando muita escolha aos pesquisadores da área.

## 3.2 Segmentação de vasos sanguíneos usando aprendizado profundo

Recentemente houve um grande crescimento no interesse da segmentação de tecidos biológicos por métodos de AP. A identificação automática de estruturas como células (RONNEBERGER; FISCHER; BROX, 2015), tumores (HAVAELI et al., 2017), pólipos (JHA et al., 2020) e órgãos (YU et al., 2018) é realizada com cada vez mais precisão. Parte desse sucesso pode ser atribuído aos diversos desafios propostos em simpósios pelo mundo <sup>1</sup>, que promovem o desenvolvimento da área pela possibilidade de pesquisadores continuamente superarem modelos desenvolvidos anteriormente, e comparar seus respectivos trabalhos usando grandes bases públicas de imagens. Nesse contexto, alterações em vasos sanguíneos

---

<sup>1</sup> Alguns exemplos:  
<<https://biomedicalimaging.org/2021/>>  
<<http://miccai.org/events/challenges/>>

são marcadores de diversos tipos de patologia, e por isso, há também um grande interesse em desenvolver métodos de segmentação de qualidade.

Em imagens 2D, boa parte do esforço em segmentação de vasos por AP está concentrado em retinografias. Um dos estudos mais completos nesse tópico é apresentado por Liskowski e Krawiec (2016), em que os autores avaliam a segmentação de vasos da retina por seis abordagens de treinamento diferentes. A rede base utilizada nesse trabalho consiste em quatro camadas de convolução seguidas por três camadas totalmente conectadas, sendo a última com duas unidades, que realiza uma classificação binária. Ainda, a rede base conta com duas camadas de *max pooling*, inseridas após a segunda e quarta camada de convolução. Essa rede base foi treinada usando cinco variações do conjunto de treinamento. A primeira conta com o conjunto original de janelas recortadas das bases de dados (com resolução de  $3 \times 27 \times 27$  píxeis), cada qual marcada entre positivo (pixel central pertencente ao vaso) e negativo (pixel central pertencente ao fundo). Uma segunda abordagem de treinamento é feita com o mesmo conjunto de janelas, porém após normalização de contraste. A terceira abordagem utilizou como conjunto de treinamento as janelas após a aplicação do clareamento ZCA (KRIZHEVSKY; HINTON et al., 2009), com o objetivo de remover a correlação global de intensidade entre os píxeis. A quarta abordagem utilizou como entrada um conjunto aumentado de janelas, aplicando operações de escala, rotação, giro horizontal e vertical, e correção de gamma para saturação e valor (espaço de cores HSV). A quinta e última abordagem consistiu em balancear o número de janelas, de modo que o conjunto de treinamento tenha a mesma quantidade de exemplos positivos e negativos. Além dessas cinco variações, os autores também implementaram uma versão da rede base sem as operações de *max pooling*. Essa por sua vez, foi treinada com o conjunto original de janelas, tal qual a rede base.

Embora todas as abordagens tenham apresentado resultados similares, os experimentos feitos por Liskowski e Krawiec (2016) demonstraram que a rede treinada com um conjunto de treinamento balanceado obteve melhor desempenho, tendo superado o estado da arte da época para as bases DRIVE e STARE – considerando como métrica o valor de área sob a curva ROC (AUC). Resultados promissores foram também obtidos pela rede construída sem *max pooling*, fato atribuído pelos autores à perda de informação que ocorre ao aplicar tal operação sucessivas vezes a uma janela pequena.

Nesse mesmo trabalho, Liskowski e Krawiec (2016) ainda avaliaram o desempenho das redes utilizando uma abordagem de predição estruturada (SP). Nesse caso, a saída da rede que antes era um escalar para determinado pixel (verdadeiro ou falso), torna-se uma janela de  $s \times s$  valores. A ideia por trás disso é calcular o erro total para essa janela de  $s^2$  predições, o que faria a rede tomar melhores decisões, uma vez que a informação espacial ao redor do píxel central é considerada. Essa abordagem de treinamento aplicada à rede balanceada obteve uma AUC máxima de 99,28%, com  $s = 5$ . Ao nosso conhecimento, esse resultado supera qualquer outro método tradicional publicado até hoje (BADAR; HARIS;

FATIMA, 2020).

Um fator importante a ser considerado é a capacidade do classificador em segmentar capilares. Liskowski e Krawiec (2016) argumentam que as versões de redes treinadas com SP deixaram de segmentar vasos mais tênues, apresentando mais falsos negativos em regiões de capilares. Em contrapartida, as redes sem SP tenderam a segmentar melhor capilares, porém a custo de muitos falsos positivos, o que explica seu desempenho inferior. Dito isso, é interessante avaliar o uso de arquiteturas de rede que buscam equilibrar a acurácia de segmentação para vasos de calibres diferentes.

No trabalho de Zhang e Chung (2018), os autores buscam aperfeiçoar a segmentação de capilares da retina tratando o problema como uma abordagem multiclasse. Assim, cinco classes diferentes são assimiladas ao padrão ouro das imagens: píxeis de fundo, píxeis de fundo perto de vasos espessos, píxeis de fundo perto de vasos finos, vaso espesso, e vaso fino. A ideia por trás dessa metodologia é que o treinamento da rede se torna mais focado em pontos de borda, o que pode levar a melhoras na segmentação, especialmente para vasos mais finos. Zhang e Chung (2018) submeteram esse conjunto de dados a uma versão da U-Net adaptada para o treinamento usando *deep supervision* (LEE et al., 2014). Essa técnica consiste na utilização da saída de camadas intermediárias da rede na função de custo, dessa forma, a perda é calculada levando em consideração informações que poderiam se perder no processo de propagação das ativações. Ainda, pesos diferentes foram atribuídos a cada classe, o que ajuda a superar problemas de balanceamento no conjunto de treinamento.

Os resultados obtidos por Zhang e Chung (2018) evidenciam as vantagens em tratar corretamente a segmentação de capilares. Com a melhora no reconhecimento de vasos mais finos, houve uma redução no número de falsos negativos, e por consequência um aumento de 9,12% no valor de sensibilidade em relação ao estado da arte na época. Ainda, os valores de AUC superaram os trabalhos até então publicados para ambas as bases DRIVE e CHASEDB1 (97,99% e 99% respectivamente), ficando atrás somente em relação à base STARE, melhor segmentada anteriormente pelo trabalho de Liskowski e Krawiec (2016).

Trabalhos mais recentes que tratam da segmentação de vasos sanguíneos foram desenvolvidos em grande parte para imagens 3D do cérebro. Ao nosso conhecimento, e assim como afirmado pelos autores, a primeira arquitetura de rede dedicada especificamente para segmentação de vasos em imagens volumétricas foi apresentada por Tetteh et al. (2018) e recentemente publicada em Tetteh et al. (2020). Nesse trabalho, os autores avaliam o desempenho de sua rede em segmentar vasos obtidos por meio de angiografia por ressonância magnética de cérebros humanos, e angiografia por tomografia computadorizada de cérebro de camundongos. Ainda, foram apresentados alguns problemas inerentes à maioria das metodologias de segmentação de vasos por AP. O primeiro deles se refere à dificuldade em obter grandes quantidades de dados para treinamento, uma vez que a marcação manual de estruturas em imagens volumétricas requer muito tempo e esforço de especialistas. Isso



pôde ser resolvido pelos autores com a adição de uma base de dados composta por vasos gerados artificialmente ao conjunto de treinamento. O gerador utilizado, publicado por Schneider et al. (2012) é motivado biologicamente e possui uma metodologia de geração de vasos inspirada no processo de angiogênese (crescimento de novos vasos a partir de vasos existentes).

Uma outra preocupação de Tetteh et al. (2018) é com a complexidade das operações de convolução 3D em uma rede profunda, tanto de memória, quanto de tempo. Pensando nisso, os autores empregam em sua arquitetura de rede o conceito de filtros de convolução em cruz. Nessa abordagem, o resultado de uma operação de convolução para um volume de  $s^3$  vóxeis é aproximado por meio da somatória de três convoluções 2D aplicadas aos planos  $xy$ ,  $xz$  e  $yz$  centrais ao volume. Assim, os autores propõem uma arquitetura com cinco camadas simples de convoluções em cruz, que recebem um volume de entrada e mapeiam a probabilidade de cada vóxel ser vaso, ou não.

Os resultados obtidos por Tetteh et al. (2018) possuem alguns pontos interessantes. Primeiro, realizar um pré-treinamento com dados artificiais e posteriormente aperfeiçoar com dados reais não leva a um grande aumento na acurácia dos resultados. Porém, a convergência ocorre bem mais rapidamente quando comparado a somente treinar a rede do zero com os dados reais. No caso apresentado pelos autores, a abordagem com pré-treinamento diminuiu em 33% o número de iterações necessárias para obter um desempenho comparável ao treinamento usando apenas imagens reais de ressonância magnética. Ainda, para avaliar o impacto que a convolução em cruz causa no treinamento da rede, os autores implementaram versões das redes U-Net 3D (ÇIÇEK et al., 2016) e V-Net (MILLETARI; NAVAB; AHMADI, 2016) com essas operações. Nesse caso, houve uma redução de aproximadamente 27% no uso de memória, e um aumento de 23% na velocidade de processamento. É importante salientar que mesmo com uma quantidade menor de parâmetros, a acurácia da segmentação usando convolução em cruz não foi impactada significativamente.

O desempenho da arquitetura proposta pelos autores foi comparada com métodos do estado da arte, incluindo as redes U-Net 3D e V-Net, tanto em suas versões originais, quanto com as operações de convolução em cruz. Usando o coeficiente de Sørensen-Dice (DSC) (DICE, 1945) como métrica, a arquitetura dos autores superou o estado da arte para todos os casos de teste. O principal fator atribuído pelos autores a esse sucesso é o fato da rede não possuir camadas de *pooling*. Segundo os mesmos, as redes que seguem esse padrão de codificador-decodificador (como a U-Net e a V-Net), podem não ser as melhores escolhas para segmentar estruturas com precisão de poucos vóxeis, justamente por conta da perda de informação inerente à subamostragem.

No que se refere à medição da qualidade da segmentação de imagens, boa parte das métricas tradicionais, *e.g.* DSC e índice de Jaccard (IoU) (JACCARD, 1908), se baseiam na contagem de erros ou acertos para cada píxel/vóxel de uma imagem. Como apontado no

trabalho de Paetzold et al. (2019), em tarefas de segmentação de vasos sanguíneos, o uso dessas métricas tradicionais pode causar vieses por dois motivos. Primeiro, o cálculo da qualidade da segmentação pela média global de acertos não pondera de maneira igualitária vasos de calibre diferentes, dessa maneira, deixar de reconhecer vasos mais finos causaria pouco impacto na aferição da qualidade geral do segmentador. Ainda, a segmentação de vasos muito finos, com raio aproximado de apenas 1 píxel/vóxel, é muito sensível à pequenas variações de posição dos vasos. Assim, mesmo que se mantenha o formato original do vaso, o desvio de apenas 1 píxel/vóxel para qualquer direção já é o suficiente para reduzir significativamente essas métricas píxel-a-píxel, como DSC e IoU.

Isto posto, Paetzold et al. (2019) sugerem em seu trabalho uma nova métrica que busca caracterizar a qualidade da segmentação de vasos sanguíneos não somente pelo número de píxeis classificados corretamente, mas também pela preservação da conectividade entre os vasos. Desse modo, sendo  $L$  o mapeamento real das classes obtido por um padrão ouro,  $P$  o mapeamento de classes previsto por um classificador, e  $cl_L$  e  $cl_P$  os eixos mediais obtidos de  $L$  e  $P$  respectivamente, é possível definir a qualidade da segmentação observando as intersecções de  $cl_L$  com  $P$  ( $cl_L 2vol_P$ ), e  $cl_P$  com  $L$  ( $cl_P 2vol_L$ ).  $cl_P 2vol_L$  está associado com a quantificação de falsos positivos, enquanto que  $cl_L 2vol_P$  está mais associado com falsos negativos. Assim, Paetzold et al. (2019) interpretam  $cl_P 2vol_L$  e  $cl_L 2vol_P$  como sendo análogos às métricas de sensibilidade e especificidade utilizadas pelo DSC (Equação 3.7). Com isso, a nova métrica proposta pelos autores, chamada de  $clDice$  (Equação 3.8), é formulada de maneira similar ao DSC, substituindo as métricas de sensibilidade e especificidade pelas intersecções dos eixos mediais.

$$Dice = 2 \times \frac{\text{sensibilidade} \times \text{especificidade}}{\text{sensibilidade} + \text{especificidade}} \quad (3.7)$$

$$clDice = 2 \times \frac{cl_P 2vol_L \times cl_L 2vol_P}{cl_P 2vol_L + cl_L 2vol_P} \quad (3.8)$$

Para avaliar a efetividade da métrica  $clDice$ , os autores realizaram a segmentação de vasos sanguíneos em imagens microscópicas do cérebro de roedores usando a arquitetura de rede U-Net 3D, e a rede apresentada por Tetteh et al. (2018). Para ambos os casos, foi verificado que usar o  $clDice$  como função de custo das redes aumentou a acurácia do cálculo de importantes características morfológicas de vasos sanguíneos, nesse caso, comprimento total do vaso, número de bifurcações, e número de terminações. Essa melhora na segmentação é também refletida em outras métricas mais clássicas, tendo também havido um aumento nos valores de DSC e IoU.

Todorov et al. (2020) publicaram recentemente uma metodologia de segmentação de vasos com o objetivo de analisar características importantes da vasculatura total do cérebro de ratos, obtidas por microscopia confocal. Até então, a segmentação automática dos vasos de um cérebro de rato completo era uma tarefa pendente: tanto por limitações de

técnicas de imageamento; quanto pela limitação dos métodos clássicos já desenvolvidos, que em muitos casos são incapazes de diferenciar corretamente píxeis de vaso e de fundo em imagens volumétricas de cérebro inteiro.

A abordagem de segmentação utilizada por Todorov et al. (2020) se baseia em vários pontos já apresentados nessa revisão. A rede utilizada pelos autores é similar à apresentada por Tetteh et al. (2018), porém, a entrada consiste em um volume de quatro dimensões, onde cada vóxel possui dois canais correspondentes à resposta de dois diferentes fluoróforos utilizados no imageamento por microscopia (vide Seção 2.1.1). Ainda, o conjunto de treinamento utilizado no trabalho é composto em grande parte por imagens de vasos geradas sinteticamente. Esse conjunto de vasos sintéticos é empregado em uma etapa de pré-treinamento, e posteriormente, o modelo é aperfeiçoado com um volume real marcado por especialistas, correspondendo à apenas 0,02% do volume de um dos cérebros utilizados.

Quanto aos resultados, o desempenho do modelo proposto por Todorov et al. (2020), foi medido por quatro métricas. Para as métricas píxel-a-píxel, o método obteve valores médios de DSC iguais a  $0,84 \pm 0,02$  (média  $\pm$  desvio padrão), IoU de  $0,84 \pm 0,04$ , e acurácia de  $0,94 \pm 0,01$ . Os autores obtiveram também uma boa preservação da conectividade na segmentação dos vasos, com uma média de  $0,93 \pm 0,02$  para a métrica *clDice*. Além disso, realizando um experimento inter-anotador, foi possível comparar a qualidade do segmentador com a de anotadores especialistas no assunto. Para tal, as anotações de dois especialistas foram comparadas com o padrão ouro obtido por outros três especialistas – incluindo o responsável pelo imageamento, e por consequência, mais familiar com as imagens. Como resultado, os dois especialistas obtiveram os valores de DSC =  $0,81 \pm 0,06$ , e acurácia =  $0,92 \pm 0,02$ ; evidenciando a competitividade do segmentador automático em relação a marcação por um especialista.

É interessante destacar que, ao comparar o desempenho da rede proposta pelos autores com as redes U-Net 3D e V-Net, não houve diferenças significativas em nenhuma das métricas de qualidade avaliadas. Esse resultado é contrário ao obtido em Tetteh et al. (2018), que defende a superioridade de arquiteturas sem operações de *pooling* para tarefas de segmentação de vasos, especialmente os mais finos. Essas diferenças de resultados possivelmente ocorreram porque a segmentação por AP pode variar por diversos fatores além da arquitetura em si, como o conjunto de dados ou a escolha de hiperparâmetros de treinamento. Porém, o resultado obtido em Todorov et al. (2020) indica que é válido considerar arquiteturas codificador-decodificador para a segmentação de vasos sanguíneos.

A segmentação obtida por Todorov et al. (2020) pôde ser utilizada para quantificar características morfológicas dos vasos para cada região do cérebro, entre elas, comprimento médio local, densidade local de bifurcações, e raio médio local dos vasos. Esses dados são muito importantes, e foram posteriormente adicionados ao notável atlas do cérebro de ratos, mantido pelo Instituto Allen <sup>2</sup>.

---

<sup>2</sup> <<https://mouse.brain-map.org/>>

Kirst et al. (2020) apresentam em seu trabalho uma proposta interessante de segmentação de vasos do cérebro de camundongos utilizando filtros pré-especificados em conjunto com CNNs. Nesse trabalho, os autores submetem o cérebro dos camundongos à um protocolo de imunocoloração chamado de *iDisco*. Após a coloração, os vasos do cérebro são imageados por completo, sem necessidade de fatiamento, por meio de microscopia óptica de fluorescência. Usando essa metodologia de imageamento, os vasos mais finos puderam ser detectados por meio de filtragem das imagens. Mais especificamente, os autores definem filtros para remover artefatos do microscópio usando percentis de intensidade das janelas ao redor de cada voxel. As imagens são posteriormente limiarizadas utilizando limiar adaptativo. Por fim, o resultado final é complementado pela aplicação do filtro de Frangi às imagens com artefatos corrigidos.

Por conta do método de coloração aplicado por Kirst et al. (2020), vasos mais espessos aparecem como tubos “ocos”. Isso porque os anticorpos utilizados na coloração se prendem apenas às paredes do vaso, visto que seu interior é vazio. Os autores utilizam uma CNN para preencher esses tubos vazios e complementar o resultado da segmentação. A CNN utilizada foi baseada na *DeepVesselNet* publicada por Tetteh et al. (2018). Os dados utilizados para o treinamento dessa CNN são uma combinação de tubos ocos gerados artificialmente (tendo como base o esqueleto de imagens reais), e dados reais.

As segmentações obtidas por Kirst et al. (2020) foram utilizadas para caracterizar regiões do cérebro de camundongos a partir da morfologia de seus vasos. Ainda, os autores estudaram o remodelamento da vasculatura do cérebro de camundongos submetidos a surdez congênita, e derrame isquêmico. Esse trabalho é um exemplo interessante de como a filtragem clássica de imagens aliada aos avanços de AM podem ser benéficos à pesquisas de cunho biológico.



---

# Capítulo 4

## Material e Métodos

---

*Neste capítulo, descrevemos os experimentos desenvolvidos. Primeiro, iniciamos com uma breve justificativa para a metodologia empregada nos experimentos. Logo após, apresentamos as bases de dados utilizadas. Por fim, apresentamos os dois principais estudos desenvolvidos no decorrer desse trabalho, que visam quantificar a influência da tortuosidade no realce de vasos utilizando o filtro de Frangi, e na segmentação de vasos usando aprendizado profundo.*

### 4.1 Segmentação como módulo de pré-processamento de imagens biológicas

Métodos de segmentação de imagens tipicamente possuem uma metodologia formada pela junção de três passos: filtragem, separação em classes, e medição da qualidade do resultado. Como demonstrado na Figura 4.1, nesse modelo, uma imagem passa por uma etapa de filtragem que auxilia a categorização dos píxeis da imagem em classes diferentes. Posteriormente, para a medição de qualidade da segmentação, a acurácia do método é medida por meio de comparações entre as imagens segmentadas e um padrão ouro previamente adquirido, geralmente produzido por marcações de um especialista.

Na área de ciências biológicas, há uma tendência em utilizar softwares prontos para efetuar todo o processamento necessário em uma base de imagens. Por exemplo, aplicações como o CellProfiler <sup>1</sup>, Vaa3d <sup>2</sup>, e Fiji/Imagej <sup>3</sup>, fornecem diversos módulos para realizar a segmentação e a morfometria das regiões de interesse em uma imagem, o que possibilita a um pesquisador com pouco ou nenhum conhecimento em programação implementar metodologias de extração de atributos para sua base de dados. Dito isso, um método

---

<sup>1</sup> <<https://cellprofiler.org/>>

<sup>2</sup> <<https://alleninstitute.org/what-we-do/brain-science/research/products-tools/vaa3d/>>

<sup>3</sup> <<https://imagej.net/Fiji>>

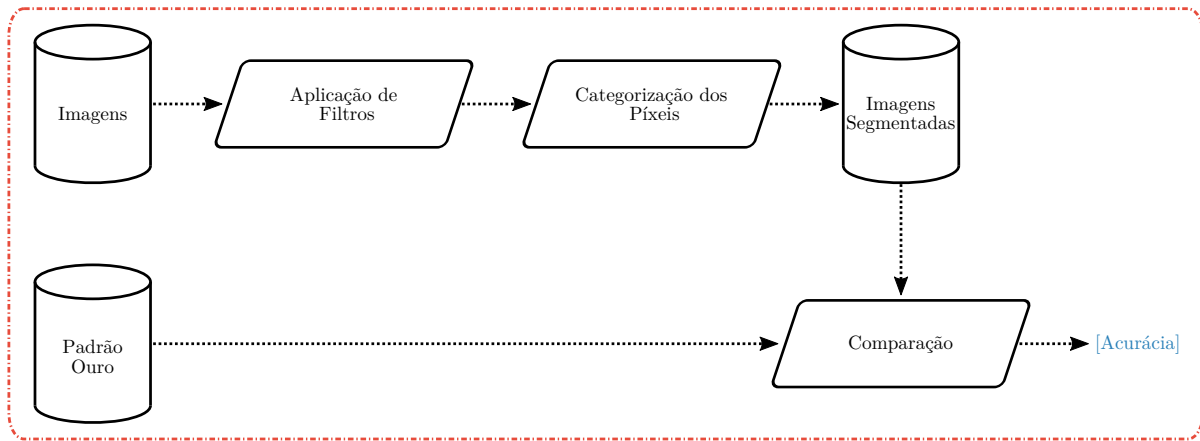


Figura 4.1 – Modelo clássico de segmentação de imagens: determinada imagem passa por uma etapa de filtragem que auxilia na categorização dos pixels em diferentes classes. Ao final, as imagens segmentadas podem ser comparadas ao padrão ouro, a fim de obter a acurácia do método. Fonte: Próprio autor.

de segmentação pode ser visto como um módulo à parte em uma rotina de extração de atributos de imagens biológicas, ou seja, uma das peças que compreendem a análise das imagens.

Dessa forma, considere um método qualquer de segmentação que foi desenvolvido e testado para determinado conjunto de imagens. Ainda, considere também um novo conjunto de imagens, distintas das utilizadas no desenvolvimento do método de segmentação. O método poderá ser aplicado nesse novo conjunto de imagens, e atributos relevantes das estruturas identificadas serão obtidos e utilizados na interpretação biológica dos dados. A Figura 4.2 ilustra esse procedimento. A qualidade da segmentação nesse novo conjunto de imagens será relativa ao quão próximo esse conjunto está do domínio de imagens para o qual o segmentador foi desenvolvido. Por conta disso, a extração de atributos de determinado conjunto de imagens está diretamente ligada à qualidade da segmentação, e por consequência, ao quão adequado o segmentador é para o domínio de determinado problema.

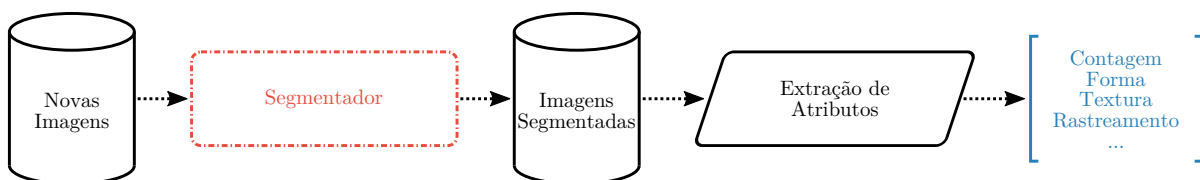


Figura 4.2 – Segmentador como um módulo à parte em uma rotina de extração de dados em imagens biológicas. Fonte: Próprio autor.

A quantificação da qualidade de um segmentador usualmente é realizada utilizando

medidas de acurácia como o Índice de Jaccard (IoU) (JACCARD, 1908) e o coeficiente de Sørensen-Dice (DSC) (DICE, 1945). Porém, como ilustra a Figura 4.3, segmentadores com acurácias semelhantes podem levar à extração de atributos com valores discrepantes, uma vez que características da imagem como a contagem de objetos, textura, forma, etc., estão sujeitas a artefatos produzidos pelos mesmos. Por exemplo, a área dos objetos pode ser superestimada após a aplicação de um método de segmentação que não define corretamente a fronteira dos objetos, mas ser corretamente estimada por um método de segmentação com acurácia similar, mas que resultou em outros tipos de artefatos não relacionados com as áreas dos objetos.

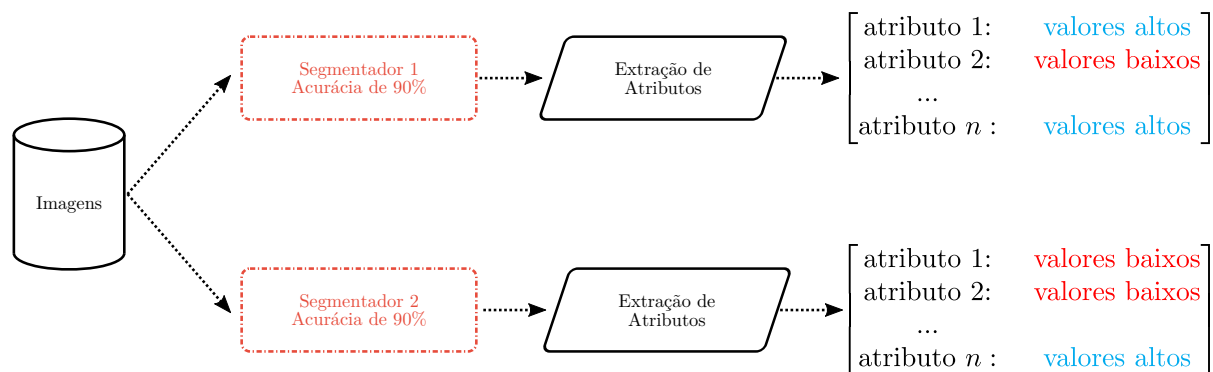


Figura 4.3 – Cenário hipotético de dois segmentadores que possuem acurácia similar, porém apresentam diferentes saídas após a extração dos atributos do conjunto de imagens. Fonte: Próprio autor.

Um exemplo mais visual da influência da segmentação é mostrado na Figura 4.4, na qual uma mesma imagem é segmentada utilizando dois métodos de segmentação distintos. Ao considerar a acurácia do método como sendo a porcentagem de píxeis reconhecidos corretamente, ambos os segmentadores 1 e 2 são parecidos. Porém, enquanto o Segmentador 1 subestima o tamanho dos objetos da imagem original, o Segmentador 2 deixa de classificar corretamente objetos inteiros. Assim, para problemas de contagem de objetos o Segmentador 1 seria mais adequado, por outro lado, caso seja necessário obter uma média da área dos objetos, o Segmentador 2 poderá levar a um melhor resultado.

É importante salientar que uma metodologia para a segmentação e extração de atributos de imagens não deve apresentar os problemas mencionados se ela for corretamente desenvolvida. Para isso, as propriedades de interesse, como contagem, área e perímetro, devem ser previamente quantificadas em algumas imagens por um ou mais especialistas. Na sequência, é possível identificar métodos de segmentação e parâmetros dos mesmos que levem não apenas a uma boa qualidade na segmentação, mas também à correta quantificação das propriedades de interesse. O estudo que será realizado neste trabalho possui foco em métodos de segmentação que foram otimizados apenas em relação a índices como IoU e DSC, ou então que foram ajustados para uma determinada propriedade de



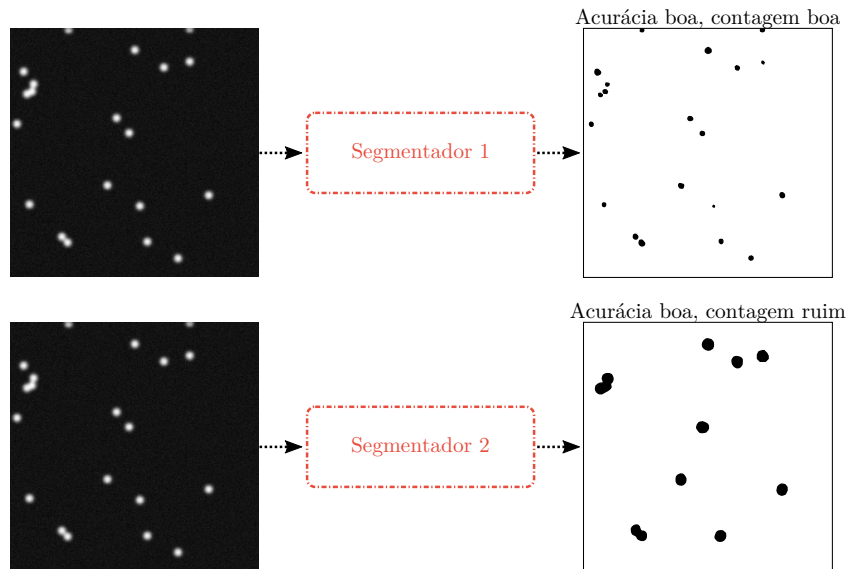


Figura 4.4 – Problemas da utilização da acurácia para caracterizar a qualidade de um extrator de atributos. Nesse cenário, ambos os segmentadores possuem acurácias similares, porém desempenhos distintos quando submetidos à tarefas de contagem de objetos. Fonte: Próprio autor.

interesse, mas depois aplicados para quantificar outros tipos de propriedades.

Isto posto, em nosso trabalho utilizamos a premissa de que a aplicação de uma etapa de segmentação não adequada ao domínio do problema, ainda que apresente uma boa acurácia, pode criar vieses na extração de características morfológicas de imagens biológicas. Em particular, daremos foco no estudo da tortuosidade de vasos sanguíneos. O foco na tortuosidade ocorre devido a duas razões principais. Primeiramente, a tortuosidade não é uma medida de fácil quantificação visual, ou mesmo computacional, como a contagem de objetos ou medição de área, o que dificulta identificar se os valores obtidos de fato correspondem com as características dos vasos sanguíneos. Portanto, é fundamental que o segmentador possua não apenas uma boa qualidade de segmentação, mas também que essa qualidade seja alta tanto para vasos pouco tortuosos quanto para vasos de alta tortuosidade. A segunda razão para o estudo da tortuosidade é que esta propriedade raramente é considerada durante o desenvolvimento de métodos de segmentação de vasos sanguíneos. Por exemplo, o filtro de Frangi apresentado na Seção 2.2.1 supõe vasos aproximadamente cilíndricos, o que não é factível para o caso de vasos com alta tortuosidade. Portanto, métodos desenvolvidos para a segmentação de vasos sanguíneos e posterior quantificação de propriedades como comprimento e diâmetro, mesmo que apresentem boa acurácia, podem não ser adequados para a quantificação da tortuosidade.

Uma ilustração de um possível viés que pode ocorrer no cálculo da tortuosidade é mostrada na Figura 4.5. Nesta situação hipotética, regiões de alta curvatura dos vasos não foram identificadas corretamente. Assim, mesmo que a segmentação possua boa acurácia, a tortuosidade dos vasos será subestimada. Foram realizados experimentos com o objetivo

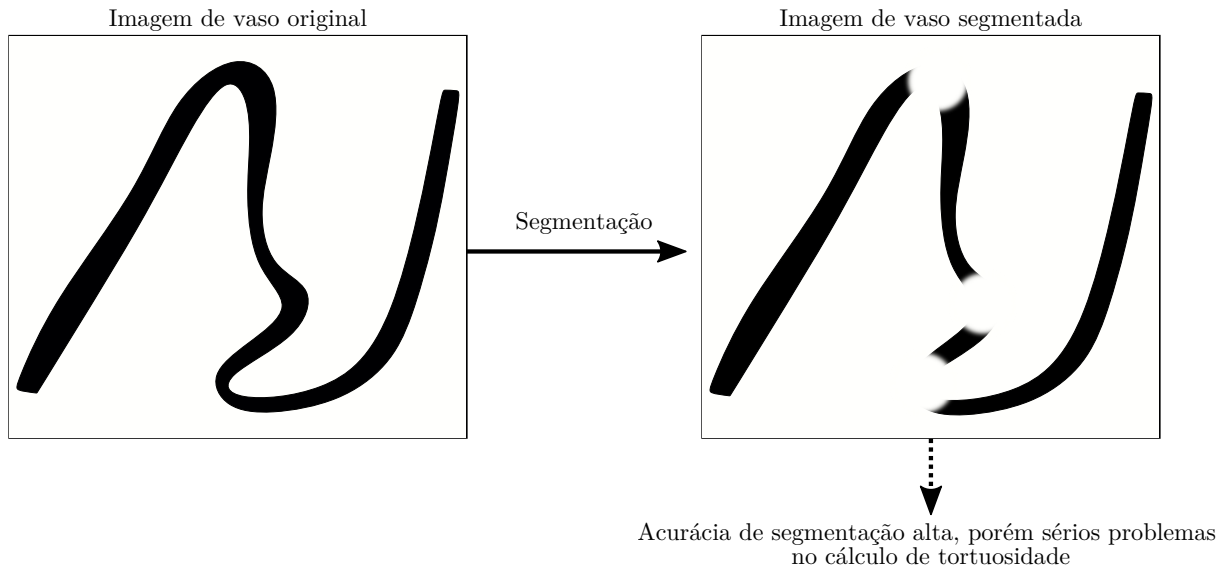


Figura 4.5 – Ilustração de um possível viés que pode ocorrer em uma metodologia de segmentação de vasos. Nesse caso, regiões de alta curvatura não são reconhecidas corretamente, o que poderia causar problemas no cálculo de tortuosidade. Fonte: Próprio autor.

de analisar diferentes cenários em que esses vieses poderiam vir a acontecer. Nas próximas seções descreveremos a metodologia dos experimentos executados.

## 4.2 Bases de dados

Em nossos experimentos, utilizamos duas bases de dados abrangendo métodos de imageamento diferentes. A seguir, apresentamos ambas as bases e alguns exemplos de imagens de cada uma.

### 4.2.1 CORTEX: Córtex cerebral de camundongos por microscopia confocal

Essa base de dados é composta por 2641 imagens do córtex cerebral de camundongos, obtidas por microscopia confocal. Todas as imagens são 3D, e possuem tamanho de  $1376 \times 1104 \times 51$  vóxeis, com cada vóxel representando  $1 \times 0,908 \times 0,908 \mu\text{m}$  da amostra. A base foi coletada pelo Prof. Baptiste Lacoste, da Universidade de Ottawa, Canadá, e o procedimento de coleta é semelhante ao publicado em Ouellette et al. (2020). Embora todas as imagens possuam informação volumétrica, usamos em nossos experimentos exclusivamente as projeções (2D) de intensidade máxima (do eixo  $z$ ) de cada uma. A Figura 4.6 apresenta um exemplo de uma imagem da base CORTEX original em 3D, e sua projeção de intensidade máxima.

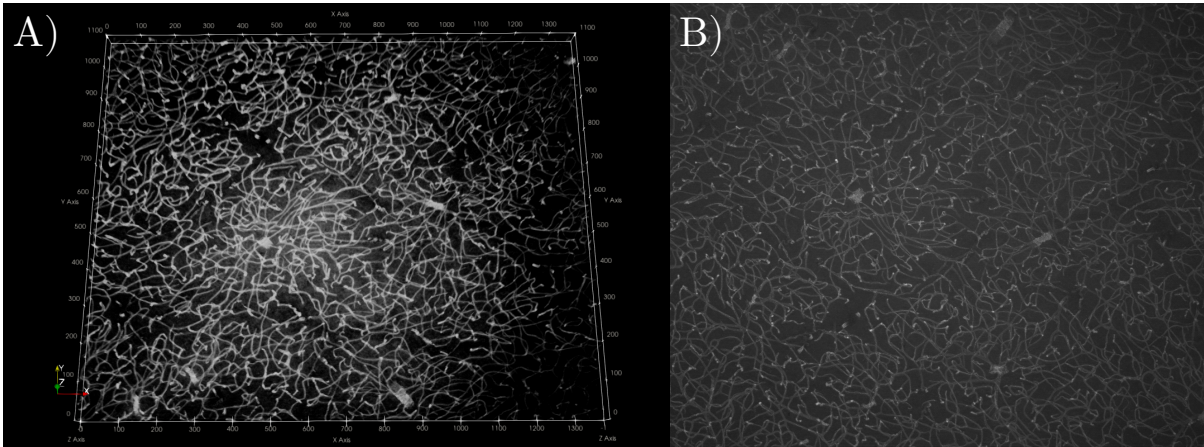


Figura 4.6 – Exemplos de imagens da base CORTEX. (A) Imagem original em 3D. (B) Projeção de intensidade máxima de A. Fonte: Próprio autor.

#### 4.2.2 DRIVE: Digital Retinal Images for Vessel Extraction

A DRIVE <sup>4</sup> (*Digital Retinal Images for Vessel Extraction*, inglês para “Imagens Digitais da Retina para Extração de Vasos”) é uma base de dados pública, extensivamente utilizada na literatura (LISKOWSKI; KRAWIEC, 2016; ZHANG; CHUNG, 2018; JIN et al., 2019), que compreende imagens da retina obtidas por meio da retinografia de pacientes diabéticos. A base é composta por 40 imagens de fundo de olho, igualmente divididas entre conjuntos de treinamento e teste. Para o conjunto de treinamento, há disponível uma marcação manual dos vasos sanguíneos para cada imagem, já para o conjunto de teste, foram feitas duas marcações por imagem: uma para ser utilizada como padrão ouro, e outra que pode ser utilizada para realizar comparações entre métodos automáticos de segmentação e a variação da segmentação entre dois especialistas. Todas as imagens foram obtidas por meio da câmera retinal não midriática Canon CR5 3CCD, com resolução de  $768 \times 583$  píxeis e 8 bits por cor. Além disso, 7 das 40 imagens da base apresentam sinais de retinopatia diabética (complicações na retina causadas pelo quadro diabético dos pacientes). A Figura 4.7 apresenta exemplos de retinas retiradas da base DRIVE, juntamente com seus respectivos rótulos marcados por especialista.

### 4.3 Estudo da influência do filtro de Frangi no cálculo de tortuosidade

Como dito na Seção 2.2.1, dada a sua capacidade de reconhecer estruturas tubulares, o filtro de Frangi é um dos métodos mais utilizados para realçar vasos sanguíneos em imagens médicas. Porém, ao aplicar o método em sistemas de vasos sanguíneos mais

<sup>4</sup> <<https://drive.grand-challenge.org/>>

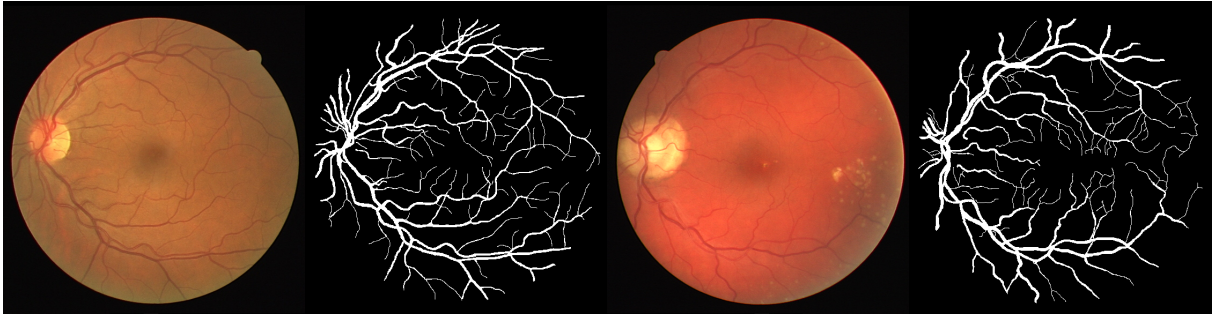


Figura 4.7 – Exemplos de imagens da base DRIVE. A figura apresenta duas retinas diferentes, e seus respectivos rótulos marcados por especialista. Fonte: Próprio autor.

complexos, regiões de bifurcações e de altas curvaturas frequentemente apresentam falsos negativos. Isso se deve ao fato de que o reconhecimento de estruturas tubulares é feito por meio da análise da matriz Hessiana dos vóxeis da imagem, e como regiões de bifurcação possuem baixa variação de intensidade para todas as direções, são facilmente confundidas com o fundo da imagem.

Nesse experimento, buscamos reconhecer alguns problemas de segmentação que podem vir a acontecer quando se utiliza o filtro de Frangi para realçar vasos sanguíneos tortuosos. Para isso, foi desenvolvida uma metodologia para a criação de vasos sanguíneos artificiais, que permite regular o comprimento, suavidade e parâmetros de tortuosidade, como ângulo e tensão. A Figura 4.8 ilustra de maneira simplificada a metodologia aqui adotada. Os procedimentos de geração dos vasos e a obtenção de estatísticas das regiões de interesse são descritos nas próximas seções.

### 4.3.1 Geração de vasos artificiais

O gerador de vasos elaborado para esse experimento permite a criação de vasos artificiais 2D, dados alguns parâmetros predefinidos. São eles: comprimento, ângulo de abertura, tensão, dilatação, suavidade e fator de ruído.

Como visto na Figura 4.8, o primeiro passo do gerador consiste na criação de um lúmen binário (região central do vaso sanguíneo). Para isso, inicialmente são traçadas duas retas que formam um arco de abertura  $\theta$ , e em seguida, é definido um disco de raio  $r$  que estipula uma máscara para a região de curvatura do vaso (Figura 4.9 - A). Essa máscara é então utilizada para definir os parâmetros de curvatura desse vaso. A região tortuosa é delineada por uma curva de Bézier quadrática (ZINGL, 2012) traçada entre três pontos de controle: os dois pontos dos segmentos de reta que tocam a borda da máscara ( $p_1$  e  $p_2$ ), e o ponto central da máscara ( $p_c$ ).

Cada ponto de controle em uma curva de Bézier possui um peso que determina sua contribuição à trajetória da mesma. Em nosso caso, o peso dado ao ponto  $p_c$  é um

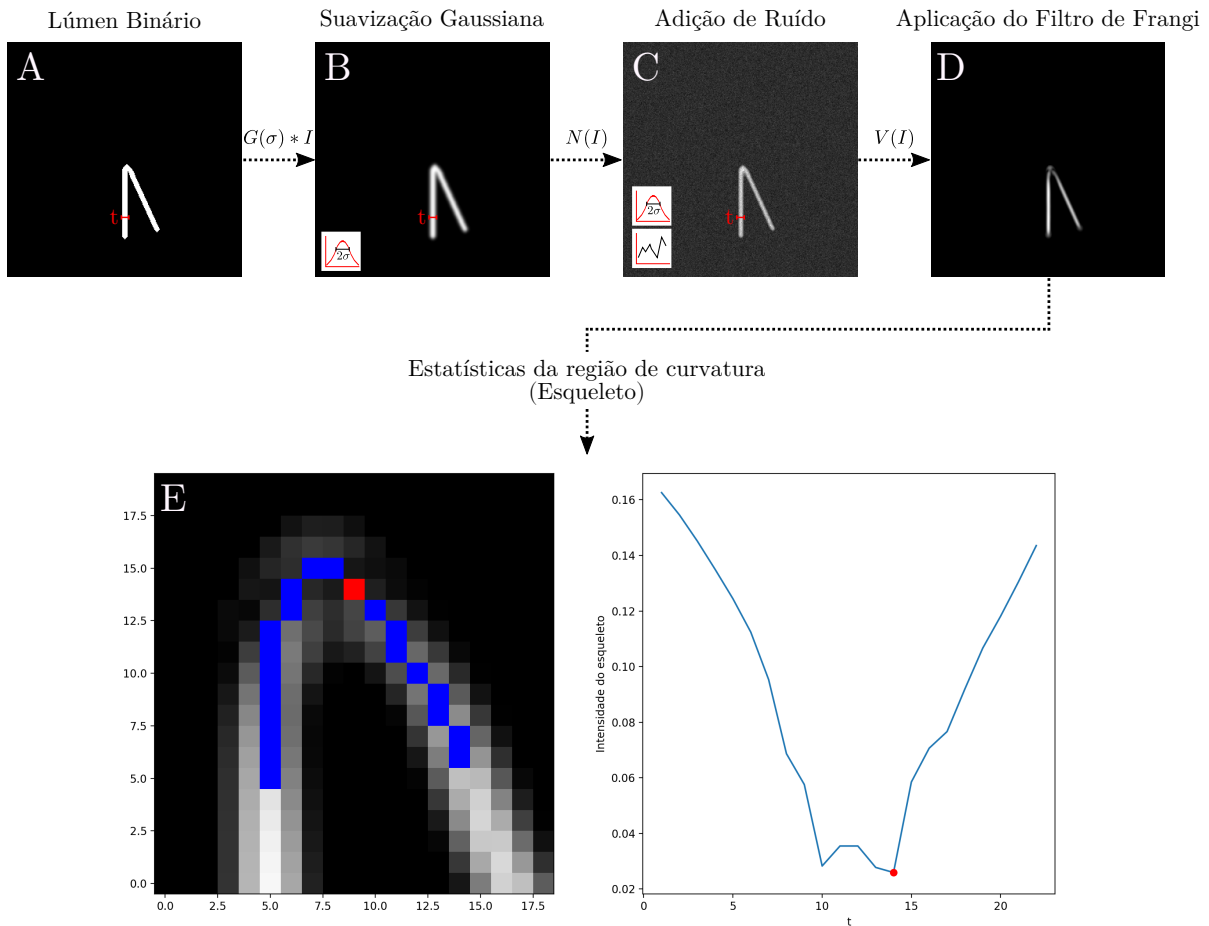


Figura 4.8 – Metodologia adotada para a geração e análise de vasos artificiais: um lúmen binário de determinada espessura  $t$  é suavizado. Na sequência, um ruído artificial é adicionado à imagem. Ao aplicar o filtro de Frangi no vaso gerado, é possível detectar falhas na região tortuosa ao analisar o esqueleto do vaso. Os valores de intensidade mostrados na imagem correspondem à saída do filtro de Frangi, sem reescala. Os pontos vermelhos em (E) representam os menores valores de intensidade na região do esqueleto do vaso. Fonte: Próprio autor.

parâmetro regulável que define a tensão da curva, ou seja, o quão abrupta ela é. Dessa forma, caso a tensão seja 0, é traçada uma reta entre os pontos ( $p_1$  e  $p_2$ ), do contrário, ao aumentar a tensão, a curva tende a se aproximar de  $p_c$  até que o vaso torne-se apenas duas retas conectadas (Figura 4.9 - B). Ao final desses procedimentos, tem-se uma curva que representa o esqueleto do vaso gerado, com 1 píxel de largura.

Após a definição da curvatura e tensão do vaso, é realizada a expansão do esqueleto para o lúmen em si. Isso é feito por meio de sucessivas operações de dilatação morfológica aplicadas ao esqueleto do vaso. Assim, para criar um vaso de espessura  $t$ , seu esqueleto é dilatado  $t/2$  vezes utilizando um elemento estruturante em forma de cruz com  $3 \times 3$  píxeis. Isso porque buscamos gerar os vasos artificiais com bordas arredondadas. Tal elemento

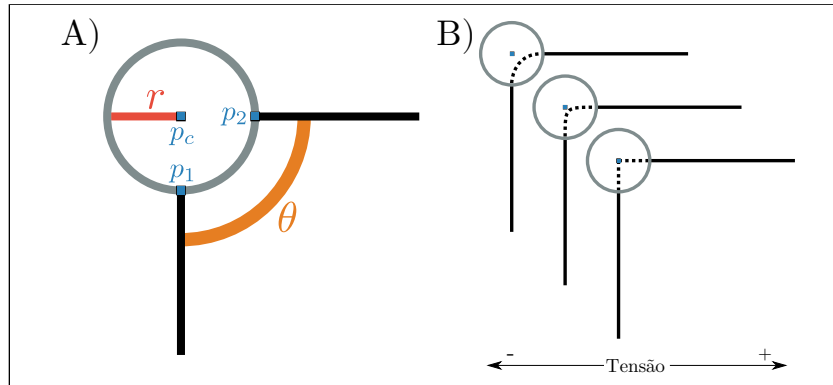


Figura 4.9 – Tensão aplicada à região de curvatura em um vaso artificial. (A) Os pontos em azul ( $p_1$ ,  $p_2$ , e  $p_c$ ) definem os pontos de controle de uma curva de Bézier. (B) A regulagem do peso de  $p_c$  define a tensão do vaso, quanto maior o valor de tensão mais abrupta é sua curvatura.

estruturante é definido por:

$$CSSE = \begin{bmatrix} 0 & 1 & 0 \\ 1 & 1 & 1 \\ 0 & 1 & 0 \end{bmatrix}.$$

Com o objetivo de criar um banco de vasos artificiais que se assemelham a exemplos reais, foram recolhidas informações sobre a distribuição de intensidades da base de dados CORTEX, apresentada em 4.2.1. Dessa forma, oito imagens aleatórias da base foram selecionadas, tiveram suas projeções de máximos calculadas, e posteriormente foram manualmente marcadas entre duas regiões de interesse: vasos tortuosos e vasos retos. Para cada uma das oito imagens selecionadas, foram marcados cinco vasos retos e cinco vasos tortuosos, sendo que cada vaso é definido como tortuoso caso ele possua as características estabelecidas anteriormente como tortuosidade de tipo II ou III (vide Seção 3.1). Escolhemos utilizar apenas essas oito imagens pois, de acordo com um especialista, é esperado que elas denotem regiões do cérebro com um grande número de vasos tortuosos. Além disso, os 80 vasos marcados têm área total de 17.117 píxeis, quantidade suficiente para obter as estimativas necessárias.

Diferentemente das regiões de vasos sanguíneos, para a obtenção das estatísticas referentes às regiões de fundo, foi utilizada apenas uma das oito imagens selecionadas. Isso porque a área relativa ao fundo da imagem é bem maior que a área dos vasos sanguíneos, sendo possível colher bem mais amostras por imagem. Ainda, as regiões de fundo de nossas imagens têm como característica intensidades constantes, diferindo pouco entre as todas imagens. Dessa forma, foram selecionadas algumas janelas na imagem escolhida, totalizando pouco mais de 10.000 píxeis.

Para realizar a distribuição de intensidade em nossos vasos artificiais, foram retiradas das imagens originais a média ( $\mu$ ) e o desvio padrão ( $\sigma$ ) das intensidades de cada região



de interesse, com  $\mu_v$  e  $\sigma_v$  caracterizando as regiões de vasos, e  $\mu_f$  e  $\sigma_f$  as regiões de fundo. Assim, o lúmen binário obtido na primeira etapa é primeiramente suavizado por um filtro Gaussiano de desvio padrão  $\sigma_G$  (Figura 4.8 - B), sendo  $\sigma_G$  variável conforme o tipo de vaso que se deseja criar. Posteriormente, a região pertencente ao vaso artificial é separada pela aplicação de um limiar, dessa forma, cada píxel é considerado pertencente ao vaso caso seu valor de intensidade seja maior que 0,001. Por fim, tendo ambas as regiões de vaso e fundo, a distribuição de intensidades é feita por meio da adição de ruído à imagem. Em nossos experimentos, modelamos o ruído utilizando duas distribuições diferentes: Gaussiana e Poisson (Figura 4.8 - C).

O ruído Gaussiano já foi utilizado na literatura para a modelagem de vasos artificiais, com o objetivo de realizar o aumento de dados para o treinamento de CNNs (TETTEH et al., 2020). Dessa forma, sendo  $N(\mu, \sigma)$  uma distribuição normal de média  $\mu$  e desvio padrão  $\sigma$ , as regiões de vaso e fundo recebem valores aleatórios retirados das distribuições  $N(\mu_v, \sqrt{\sigma_v})$  e  $N(\mu_f, \sqrt{\sigma_f})$  respectivamente. Após a designação das intensidades aplicamos um filtro Gaussiano possuindo  $\sigma = 0,5$  com o objetivo de adicionar correlação espacial ao ruído modelado. Com isso, a distribuição de ruído na imagem passa a depender em parte do objeto imageado, assim como ocorre em microscópios reais. A Figura 4.10 - B exibe um vaso gerado por essa abordagem em comparação à um vaso original da base CORTEX.

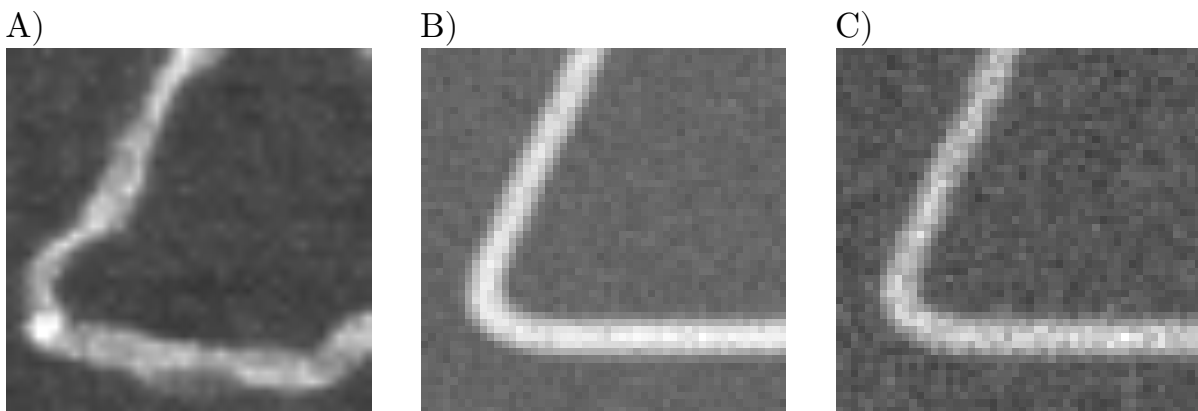


Figura 4.10 – Comparação entre um vaso real da base CORTEX, e os vasos criados por nosso gerador. (A) Vaso original da base CORTEX. (B) Vaso criado pelo nosso gerador usando ruído Gaussiano. (C) Vaso criado pelo nosso gerador usando ruído Poisson. Fonte: Próprio autor.

No imageamento por microscopia confocal, é realizada uma *contagem de fótons*. O microscópio excita o fluoróforo presente na amostra, o que resulta na emissão de um certo número de fótons. Dessa forma, o valor de intensidade na imagem referente a dado ponto de foco é determinado pelo número de fótons capturados pela lente objetiva do microscópio. Na literatura referente à modelagem de ruído gerado no processo de microscopia confocal, a contagem de fótons é descrita como um fenômeno Poissoniano, onde a incerteza do

número de fótons detectados é igual à raiz quadrada do número de fótons que espera-se detectar. Ou seja,  $\tilde{D}_f = D_f \pm \sqrt{D_f}$ , onde  $D_f$  é o número de fótons esperado e  $\tilde{D}_f$  o número de fótons que são de fato detectados (PAWLEY, 2006). Assim, uma das distribuições de intensidade do nosso modelo foi gerada por meio de um ruído de Poisson multiplicativo.

Para obter a variância ( $\lambda$ ) das distribuições de Poisson utilizadas em nosso modelo de ruído, observamos as distribuições de intensidade das imagens da base CORTEX. A Figura 4.11 demonstra os histogramas referentes aos píxeis recolhidos de 15 imagens aleatórias da base CORTEX, tanto para as regiões de fundo, quanto para as regiões de vaso. Primeiro, como dito anteriormente na Seção 4.2.1, a base CORTEX não possui marcações manuais. Assim, para determinar quais regiões pertencem a vaso ou fundo, utilizamos uma metodologia semi-supervisionada que será explicada posteriormente, na Seção 4.5.2. A Figura 4.11 - A exibe o histograma de intensidades dos píxeis pertencentes à região de fundo das imagens selecionadas. Ao estimar a função de densidade de probabilidade desse histograma pela *estimativa de densidade por kernel* (KDE), nota-se que tal distribuição pode ser satisfatoriamente aproximada por uma distribuição de Poisson com  $\lambda \approx 47$ . O mesmo pode ser dito para o caso descrito pela Figura 4.11 - B. Nesse caso, a distribuição de Poisson estimada ( $\lambda \approx 58$ ) não descreve a KDE tão bem quanto no caso dos píxeis de fundo. De fato, o ruído de uma imagem de microscopia confocal não está somente atrelado ao fenômeno da contagem de fótons, mas também à outros componentes do próprio microscópio, como o ruído eletromagnético de fundo, e o ruído do tubo fotomultiplicador. Por não termos acesso ao microscópio ao qual a base CORTEX foi imageada, é difícil estimar outros parâmetros de ruído do nosso modelo. Adicionalmente, a produção de um modelo completamente realístico de vasos sanguíneos necessitaria de diversas análises adicionais. Assim, consideramos a estimativa realizada como satisfatória para os objetivos do projeto. Notamos que a distribuição de Poisson é amplamente empregada pela literatura para estimar ruído de microscopia confocal (PAWLEY, 2006; DMITRIEFF; NÉDÉLEC, 2017).

Assim, sendo  $P(\lambda)$  uma distribuição de Poisson com variância  $\lambda$ , as regiões de vaso e fundo receberam valores de intensidade aleatórios retirados das distribuições  $P(\lambda_v)$  e  $P(\lambda_f * 0.4)$  respectivamente, onde  $\lambda_v = 47$  e  $\lambda_f = 58$ . Escolhemos diminuir o  $\lambda$  da distribuição referente aos píxeis de fundo pois a imagem final mostrou-se mais coerente com os vasos originais. De maneira semelhante ao modelo de ruído anterior, aplicamos um filtro Gaussiano possuindo  $\sigma = 0,5$  com o objetivo de adicionar correlação espacial ao ruído modelado. A Figura 4.10 exibe uma comparação entre um vaso sanguíneo real, e vasos criados por nosso gerador, com os modelos de ruído Gaussiano e Poisson.

### 4.3.2 Filtragem e quantificação da qualidade do realce

Para cada uma das imagens geradas, foi aplicado o filtro de Frangi com desvio padrão equivalente à espessura do vaso (Figura 4.8 -D). Após a filtragem, é possível obter



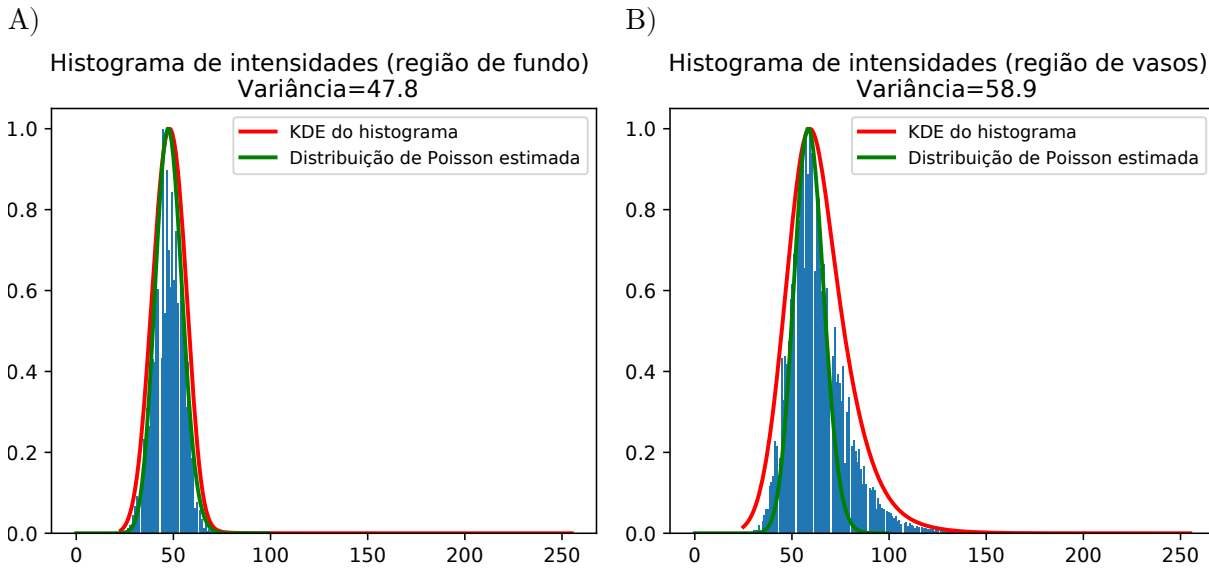


Figura 4.11 – Distribuição de intensidades nas regiões de vasos e fundo. A curva vermelha representa o KDE de cada histograma. A curva verde representa uma distribuição de Poisson que melhor descreve o histograma.

estatísticas sobre as intensidades resultantes (Figura 4.8 - E), e investigar o quanto a tortuosidade do vaso impactou em seu realce. Um realce de baixa qualidade certamente influenciará a segmentação final do vaso sanguíneo. Neste trabalho, investigamos métricas que caracterizem bem o impacto da tortuosidade no realce dos vasos sanguíneos. A Seção 5.1 descreve a escolha de tais métricas, juntamente com uma análise desse impacto no realce ao variar diferentes parâmetros de nosso gerador.

## 4.4 Cálculo de tortuosidade por regressão linear

Para os experimentos feitos nesse trabalho, foi utilizado um método de cálculo de tortuosidade multiescala que, ao nosso conhecimento, ainda não foi publicado na literatura. Trata-se de uma abordagem que utiliza regressão linear para verificar a tortuosidade de regiões específicas de um vaso sanguíneo. Em nossos experimentos, processamos estritamente imagens em 2D (base DRIVE, e projeções de máximos da base CORTEX). Entretanto, o método funciona da mesma forma para imagens 3D.

O primeiro passo desse procedimento consiste na seleção dos pontos de bifurcação de uma rede, que definem um conjunto de segmentos de reta. Dessa maneira, dado um esqueleto binário de uma rede de vasos sanguíneos com 1 píxel de largura (Figura 4.12 - A), determinado píxel é considerado um *ponto de bifurcação* caso ele pertença ao esqueleto e ao mesmo tempo possua três ou mais vizinhos (vizinhança-8) que também pertençam ao esqueleto. Ainda, caso um píxel pertencente ao esqueleto do vaso possua apenas um vizinho que também pertença ao esqueleto, ele corresponde ao ponto final

de um segmento de vaso, e é definido como uma *terminação*. Assim, cada segmento de vaso é composto pelo conjunto de píxeis que conectam dois pontos de bifurcação, ou um ponto de bifurcação a uma terminação (Figura 4.12 - B). Em casos de imagens que não possuam informação volumétrica, como a retinografia, pontos de bifurcação são definidos por ramificações naturais dos vasos sanguíneos. Já para imagens originalmente 3D, pontos de bifurcação podem ser definidos tanto por ramificações naturais dos vasos sanguíneos, quanto por cruzamentos de ramos que ocorrem na terceira dimensão e são capturados como ramificações pela projeção de máximos. Esta desvantagem é inerente à perda de informação que ocorre ao representar uma estrutura 3D em 2D.

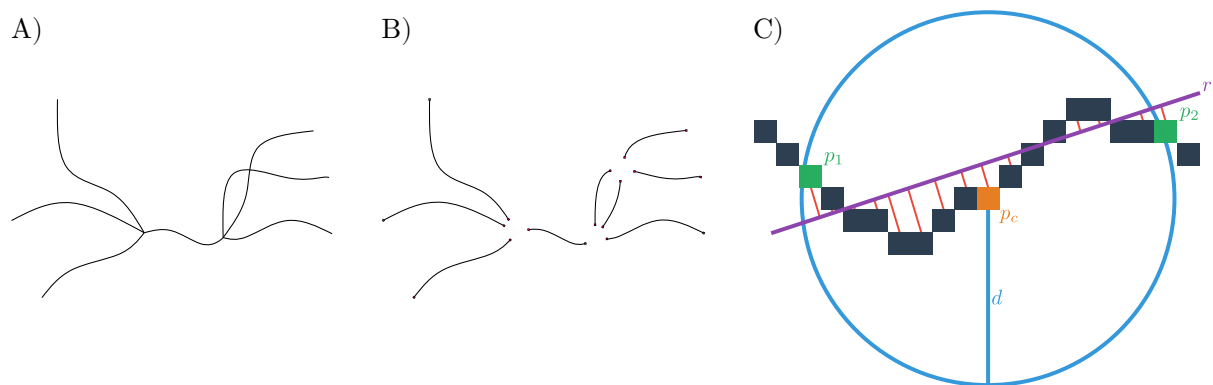


Figura 4.12 – Ilustração do método utilizado para calcular a tortuosidade de um determinado segmento de vaso. (A) - Rede de vasos sanguíneos. (B) - Rede após o reconhecimento das bifurcações e separação dos segmentos. (C) - Ilustração do método de regressão linear aplicado a um píxel de um segmento de vaso. Fonte: Próprio autor.

O cálculo da tortuosidade para determinado píxel de um segmento de vaso é demonstrado pela Figura 4.12 - C. Como ilustrado, para um dado píxel de referência  $p_c$ , sua vizinhança local é composta pelos píxeis inclusos no interior de um círculo de raio  $d$  centrado em  $p_c$ . Uma reta  $r$  é então ajustada ao conjunto dos píxeis vizinhos utilizando o método de regressão linear por mínimos quadrados. O valor de tortuosidade atribuído a  $p_c$  é obtido pela média das menores distâncias entre os píxeis vizinhos a  $p_c$  e a reta  $r$  (Figura 4.12 - C, linhas vermelhas). O fator multiescala dessa abordagem se dá pela possibilidade de ajustar o tamanho da vizinhança local, permitindo a detecção de diferentes tipos de estruturas tortuosas conforme a necessidade do problema. Contudo, é importante salientar que quanto maior o valor de  $d$ , menor o comprimento do mapa de tortuosidade válido para dado segmento de vaso. Isso ocorre pois os píxeis próximos aos pontos de terminação ou bifurcação, ou seja, correspondentes ao início ou fim de um segmento de vaso, não possuem o número de vizinhos necessários para o cálculo de sua tortuosidade. Dessa forma, o mapa de tortuosidade válido possui comprimento inferior ao respectivo segmento de vaso. Para todos os experimentos que serão apresentados posteriormente, utilizamos  $d = 5$  píxeis.

## 4.5 Influência do conjunto de treinamento na tortuosidade de vasos sanguíneos segmentados por aprendizado profundo

Como dito anteriormente na Seção 3.2, boa parte da qualidade de uma segmentação obtida por meio de técnicas de AP está diretamente ligada ao conjunto de treinamento utilizado. Dito isso, consideramos que podem ocorrer vieses em tarefas de segmentação e morfometria de vasos por AP quando há um desbalanceamento entre o número de vasos retos e tortuosos no conjunto de treinamento utilizado. Para estudar isso, realizamos dois experimentos com bases de dados distintas. Inicialmente, utilizamos a base DRIVE para a verificação de vieses de morfometria e segmentação conforme modificamos o balanceamento das classes tortuoso e reto para o treinamento de uma rede neural. Obtidos alguns resultados iniciais, decidimos expandir esse experimento com a base de dados CORTEX, por uma série de motivos. Primeiro, a base CORTEX possui um número bem maior de imagens, além de uma densidade maior de vasos sanguíneos. Ainda, por descrever vasos que possuam retinopatia diabética, os vasos mais tortuosos da base DRIVE podem estar relacionados à alterações de outras estatísticas da imagem, dadas as manchas na retina que podem ocorrer por conta dessa doença. Essa mesma situação não ocorre com a base CORTEX, visto que as alterações na tortuosidade são em grande parte induzidas geneticamente. A metodologia empregada nesses dois experimentos são descritas nas próximas subseções.

### 4.5.1 Verificação de vieses de segmentação: base de dados DRIVE

No primeiro experimento, classificamos a base de dados DRIVE (vide Seção 4.2.2) entre píxeis que pertencem à regiões retas, e píxeis que pertencem à regiões tortuosas. Dessa forma, podemos controlar o balanceamento das classes de treinamento e teste para tarefas de segmentação, e assim, observar problemas que podem acontecer quando redes neurais são treinadas utilizando vasos sanguíneos de um tipo (reto ou tortuoso) mas aplicadas em vasos de outro tipo. A seguir, é descrito o procedimento de classificação entre regiões retas e tortuosas, além da metodologia de treinamento da rede neural escolhida.

#### 4.5.1.1 Geração de mapas de tortuosidade e separação em classes

A Figura 4.13 ilustra o procedimento de geração de marcações para vasos tortuosos e retos. O primeiro passo dessa rotina é calcular o esqueleto dos vasos sanguíneos da imagem de entrada. Para isso, o algoritmo de Palàgyi e Kuba (1998) (apresentado na Seção 2.3.3) é aplicado à imagem binária correspondente a marcação do especialista. O esqueleto resultante é então submetido ao algoritmo de cálculo de tortuosidade apresentado em 4.4, formando um mapa que descreve a tortuosidade local em cada ponto do esqueleto.

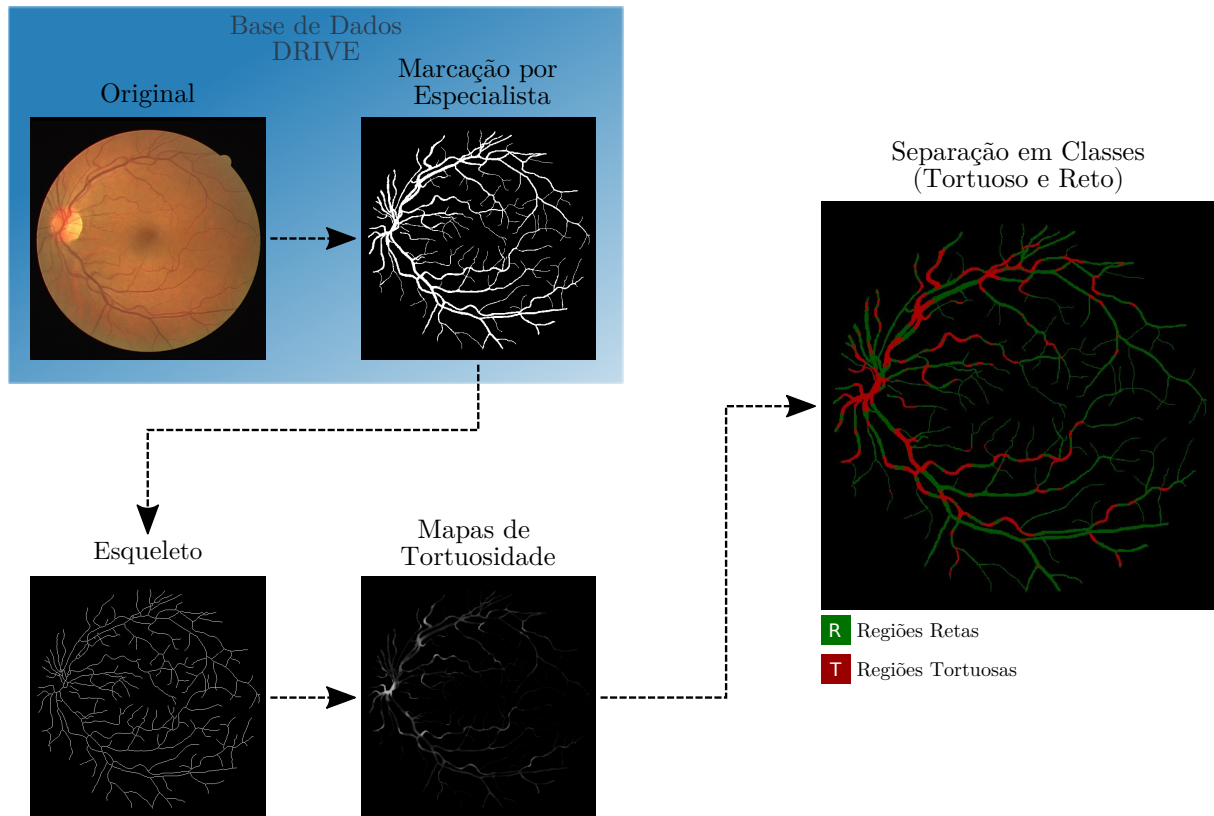


Figura 4.13 – Processo de separação de vasos sanguíneos da retina nas categorias tortuoso (regiões em vermelho) e reto (regiões em verde). Fonte: Próprio autor.

Para prosseguir com a segmentação, é necessário expandir o mapa de tortuosidade obtido pela etapa anterior até que o mesmo tenha a espessura do vaso original. Esse procedimento – ilustrado pela Figura 4.14 – é feito da seguinte maneira: a imagem binária que descreve a marcação pelo especialista é sobreposta ao mapa de tortuosidade (Figura 4.14 - B). Em seguida, cada píxel que pertença a um vaso recebe o valor de tortuosidade igual ao ponto do mapa de tortuosidade com menor distância euclidiana (Figura 4.14 - C). A imagem resultante é então suavizada por um filtro gaussiano de  $\sigma = 2$ , gerando o mapa final de tortuosidade (Figura 4.14 - D).

Com o objetivo de dar maior peso aos píxeis tortuosos, nós normalizamos o mapa de tortuosidades expandido e elevamos seus valores ao quadrado. Por fim, um píxel é considerado tortuoso caso seu valor de tortuosidade seja superior ao percentil 70 de toda a região pertencente a vasos sanguíneos, do contrário, ele é classificado como reto.

#### 4.5.1.2 Segmentação dos vasos utilizando as arquiteturas U-Net e Resnet34

Para realizar a tarefa de segmentação de vasos, optamos por utilizar uma implementação de U-Net provida pela biblioteca fast.ai <sup>5</sup>. Essa implementação, chamada de U-Net

<sup>5</sup> <<https://www.fast.ai/>>

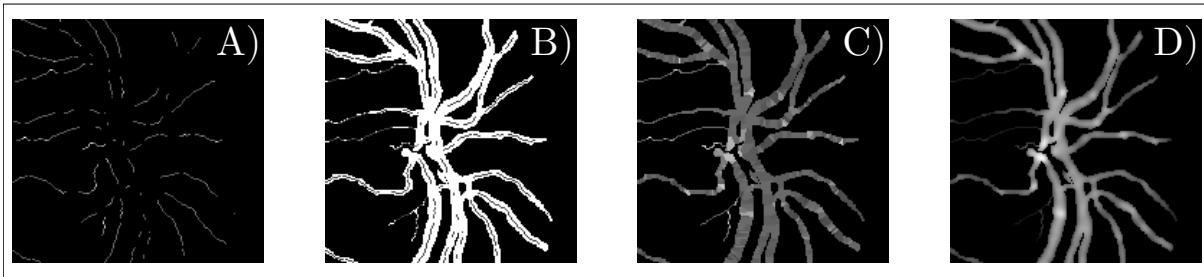


Figura 4.14 – Expansão do mapa de tortuosidade até a espessura de seu vaso correspondente. (A) - Mapa de tortuosidade original, com espessura de um píxel. (B) - Sobreposição da marcação do especialista ao mapa de tortuosidade. (C) - Expansão do mapa de tortuosidade pela transformada de distância. (D) - Suavização do mapa de tortuosidade obtido. Fonte: Próprio autor.

Dinâmica (*Dynamic Unet* <sup>6</sup>), recebe como parâmetro uma das arquiteturas de rede disponíveis pelo fast.ai e cria uma rede neural topologicamente semelhante à U-Net original (vide Seção 2.4.2). Isso é feito por meio de um mecanismo que usa a arquitetura passada por parâmetro como o codificador da U-Net, calculando automaticamente o tamanho dos mapas de características intermediários, e posteriormente gerando o decodificador da rede com as operações de concatenação necessárias. Uma das vantagens desse modelo é a possibilidade de utilizar um codificador pré-treinado e aproveitar os benefícios do aprendizado por transferência. Para esse experimento, utilizamos como codificador a rede ResNet34, pré-treinada com a massiva base de dados ImageNet <sup>7</sup>. Ainda, considerando a alta resolução de nossas imagens (mais evidente na próxima subseção), uma arquitetura de rede codificador-decodificador diminui consideravelmente a quantidade de parâmetros de treinamento, o que melhora o desempenho do modelo em nosso hardware. Como mostra a Figura 4.15, a abordagem de treinamento aqui utilizada consiste na variação dos conjuntos de treinamento e teste submetidos à rede neural mencionada acima. Três cenários principais serão estudados: a acurácia da segmentação de vasos sanguíneos retos ao treinar a rede com somente vasos sanguíneos tortuosos, a acurácia da segmentação de vasos tortuosos ao treinar a rede com somente vasos retos, e por fim, para fins de comparação, a acurácia da segmentação de quaisquer vasos sanguíneos ao treinar a rede com toda a base de dados – vasos tortuosos e vasos retos.

Conforme a Equação 2.18, a função entropia cruzada é calculada sobre uma distribuição de probabilidades dos valores em que cada amostra pode ser classificada, e para imagens, a perda total da classificação ( $L$ ) pode ser obtida por meio da média dos valores obtidos

<sup>6</sup> <<https://docs.fast.ai/vision.models.unet.html>>

<sup>7</sup> <<http://image-net.org>>

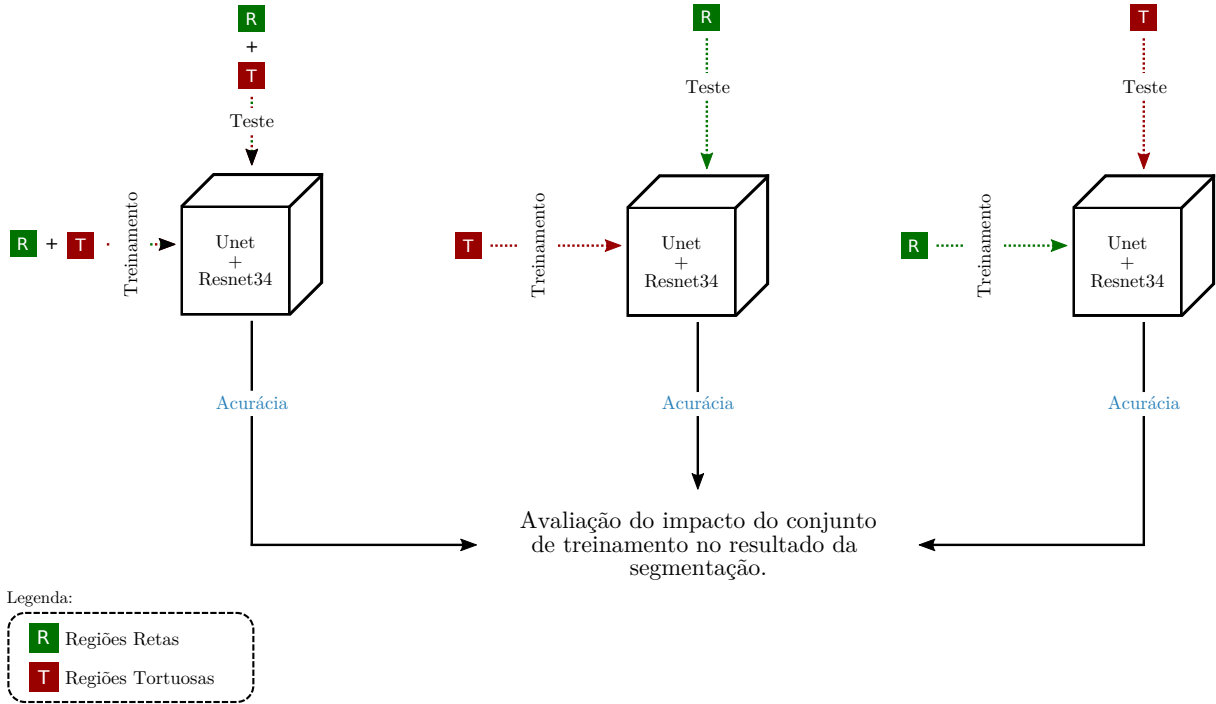


Figura 4.15 – Modelo de avaliação do impacto do conjunto de treinamento no resultado da segmentação de vasos sanguíneos de imagens da retina. Fonte: Próprio autor.

por essa função para todos os píxeis:

$$L = \frac{\sum_i E(p_{f_i}) + \sum_j E(p_{t_j}) + \sum_k E(p_{r_k})}{N_{p_f} + N_{p_t} + N_{p_r}}, \quad (4.1)$$

onde  $E(x)$  é a função de entropia cruzada definida pela Equação 2.18, e  $p_f$ ,  $p_t$ , e  $p_r$  são os conjuntos de píxeis que definem respectivamente as regiões de fundo, vasos tortuosos e vasos retos.  $N_{p_f}$ ,  $N_{p_t}$ , e  $N_{p_r}$  definem o número de píxeis de cada conjunto.

Dito isso, a variação do conjunto de treinamento demonstrada na Figura 4.15 foi realizada com base nessa função de perda. O cálculo da função de perda considerando apenas conjuntos de píxeis de determinadas regiões de interesse – ao invés da imagem toda – resulta em um treinamento enviesado, que causa a atualização dos pesos da rede ignorando demais regiões da imagem. Assim, para situações em que queremos avaliar o impacto da tortuosidade no treinamento da rede, a perda  $L_t$  é calculada apenas para os conjuntos de píxeis de fundo e de vasos tortuosos:

$$L_t = \frac{\sum_i E(p_{f_i}) + \sum_j E(p_{t_j})}{N_{p_f} + N_{p_t}}. \quad (4.2)$$

De maneira semelhante, utilizamos a perda  $L_r$  para os casos de teste em que é necessário

treinar a rede com apenas vasos retos:

$$L_r = \frac{\sum_i E(p_{f_i}) + \sum_k E(p_{r_k})}{N_{p_f} + N_{p_r}}. \quad (4.3)$$

Para obtenção dos resultados apresentados na Seção 5.2.1, foram definidos os seguintes hiperparâmetros. O tamanho do lote de treinamento foi fixado como 1 imagem, enquanto a função de custo foi regularizada por meio do método de decaimento de pesos, com  $\lambda = 0,01$ . Das 20 imagens disponibilizadas para treinamento pela base DRIVE (vide Seção 4.2), utilizamos 15 imagens aleatórias para treinamento de nossa rede, e as 5 restantes como conjunto de validação. Utilizamos como conjunto de testes as 20 imagens pré-selecionadas pela base DRIVE.

A taxa de aprendizagem ( $\eta$ ) inicial foi selecionada a partir do método *lr\_find* implementado na biblioteca *fast.ai*, que explora a taxa de aprendizado dentro de um intervalo e exibe graficamente a curva de perdas. Nesse quesito, seguimos a recomendação dos desenvolvedores da biblioteca, em utilizar como taxa inicial um décimo do valor correspondente à menor perda retornada pelo método. Todavia, todo o treinamento da rede foi realizado utilizando a política *1cycle* (SMITH, 2018), e como essa técnica visa aumentar a velocidade de treinamento e diminuir as chances de *overfitting* pela variação da taxa de aprendizagem durante o treinamento, as taxas reais de aprendizagem variam entre o intervalo  $[\eta/25, \eta]$ .

Selecionados os hiperparâmetros, o treinamento da rede foi efetuado por 25 épocas. Para as 15 primeiras, somente são atualizados os pesos iniciados aleatoriamente, ou seja, que não foram pré-treinados pela ImageNet. Essa abordagem resulta em um treinamento mais rápido – uma vez que não é necessário atualizar todas as camadas da rede –, e ao mesmo tempo garante que os filtros genéricos provenientes do pré-treinamento não sejam erroneamente alterados nas primeiras épocas. Posteriormente, todos os pesos da rede são atualizados no treinamento. Assim, são efetuadas mais 10 épocas de treinamento com taxa de aprendizagem variável, bem pequena para as primeiras camadas, e que aumenta gradativamente até as camadas finais da rede, ocasionando poucas mudanças nos filtros mais genéricos das primeiras camadas, e aumentando essas mudanças conforme os filtros tornam-se mais específicos ao nosso problema.

#### 4.5.2 Quantificação de vieses de tortuosidade em redes pré-treinadas: base de dados CORTEX

Nesse experimento, investigamos a possibilidade de refinar redes pré-treinadas para mitigar vieses de tortuosidade que podem ser propagados devido à natureza dos dados originais ao qual uma rede foi originalmente treinada. A Figura 4.16 demonstra uma situação hipotética (porem usual) onde essas investigações seriam pertinentes. Primeiro, um grupo de pesquisadores interessados na segmentação de vasos sanguíneos obtêm um



conjunto de imagens de treinamento e marcam manualmente o respectivo padrão ouro para otimizar uma rede neural (Figura 4.16 - A). Após a escolha da arquitetura e a respectiva otimização, obtém-se uma rede neural treinada para segmentar tais imagens com qualidade satisfatória, geralmente aferidas por medidas de qualidade pixel-a-pixel, como IoU e DICE. Em seguida, é comum que pesquisadores disponibilizem publicamente a rede já treinada, que pode vir a ser utilizada por outros grupos de pesquisa, ou até mesmo para pesquisas futuras dentro do mesmo grupo. Nesse caso, um refinamento adicional pode ser aplicado à rede com o objetivo de melhorar sua capacidade de generalizar para os novos dados (Figura 4.16 - B). Aqui, é interessante destacar dois pontos principais. Primeiramente, o refinamento aplicado à rede pré-treinada exige uma quantidade de trabalho proporcional ao número de imagens adicionais marcadas manualmente. Adicionalmente, assim como a rede original, não é garantido que a mesma tenha capacidade de realizar a morfometria dos vasos de maneira satisfatória.

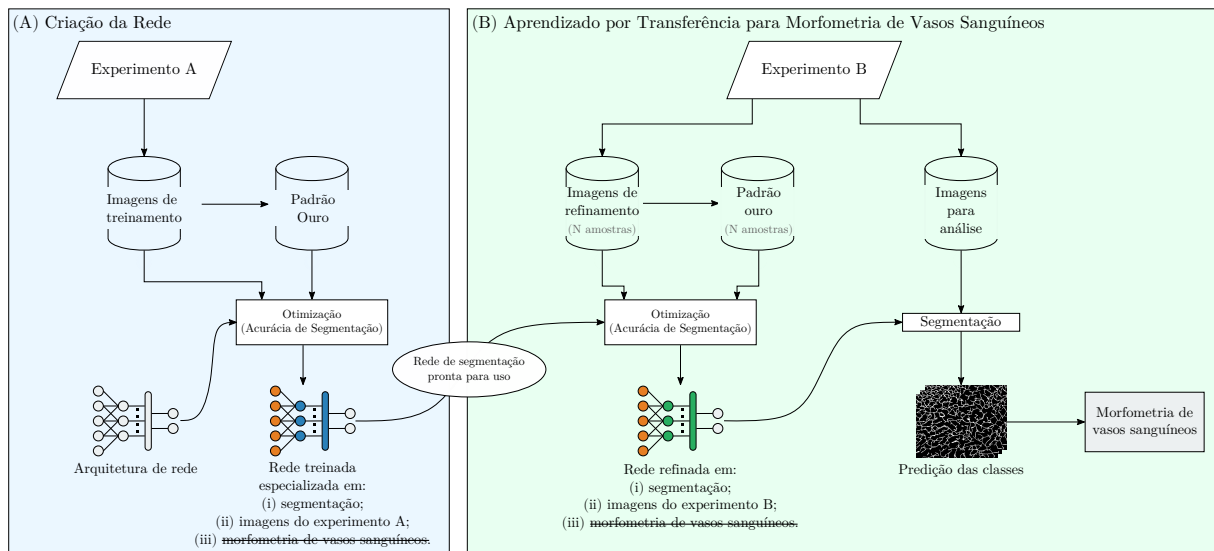


Figura 4.16 – Modelo de aprendizado por transferência que é usualmente utilizado para a morfometria de vasos sanguíneos. (A) Imagens obtidas a partir da condição experimental A são utilizadas para treinar uma rede neural especializada em segmentá-las. Tal rede é então disponibilizada publicamente. (B) A rede antes treinada para o Experimento A é refinada com imagens obtidas em uma nova condição experimental, agora com o objetivo de não só segmentá-las, porém também realizar a morfometria de seus vasos sanguíneos.

Para responder nossas questões de pesquisa, dividimos nossos experimentos em duas etapas. Primeiro, otimizamos duas redes neurais, cada uma especializada em segmentar vasos sanguíneos classificados como tortuosos, ou retos. Nesse caso, tomamos cuidado em utilizar metodologias de treinamento bem empregadas na literatura, com o objetivo de aumentar a abrangência de nossos experimentos. Em seguida, medimos a capacidade de cada rede especializada em realizar a morfometria do conjunto de dados oposto, ou seja, a



rede especializada em vasos retos foi aplicada em vaso tortuosos, e vice-versa. Após aferir a qualidade da morfometria do conjunto de dados oposto, realizamos o refinamento de cada rede especializada com imagens adicionais, assim pudemos verificar quaisquer melhoras na segmentação e morfometria das redes após passar por etapas de refinamento cada vez mais robustas. As metodologias empregadas em nossos experimentos são descritas nas subseções abaixo.

#### 4.5.2.1 Segmentação da base CORTEX por meio de filtragem e limiarização

Como o experimento proposto se alicerça no treinamento de redes neurais, é necessário um conjunto de rótulos para executar tais treinamentos. A base CORTEX por si só, não possui marcações manuais por especialistas. Assim, em nossos experimentos, treinamos nossas redes neurais utilizando rótulos da base CORTEX obtidos por meio de uma metodologia semi-supervisionada de segmentação de vasos, envolvendo abordagens clássicas de segmentação de imagens, como limiarização adaptativa e operações morfológicas. O objetivo principal desse experimento não é avaliar a acurácia da CNN em segmentar os vasos, e sim verificar vieses de tortuosidade que poderiam ocorrer ao fazê-lo. Assim, é seguro desenvolver tais análises utilizando rótulos obtidos a partir de um método robusto de segmentação. A robustez dessa metodologia é comprovada pelos trabalhos anteriores nos quais ela foi empregada (LACOSTE et al., 2014; OUELLETTE et al., 2020).

Primeiro, é aplicado um filtro Gaussiano com desvio padrão 1 a todos os volumes 3D da base CORTEX. Posteriormente, para cada fatia da imagem 3D, é aplicado um limiar adaptativo com uma janela de tamanho  $100\mu m \times 100\mu m$ . A partir do volume binário obtido, removem-se componentes conexos menores que  $500\mu m^2$ . Após executar esses passos, ainda é possível que píxeis pertencentes ao fundo fiquem dentro dos vasos, formando buracos. Buracos maiores que  $100\mu m$  são preenchidos por meio da remoção de elementos conexos da imagem binária invertida. Como estamos interessados em avaliar o desempenho da morfometria de vasos em 2D, as projeções de máximos (na direção  $z$ ) dos volumes binários foram utilizadas como entrada para nossas redes. A Figura 4.17 exhibe um exemplo da binarização de uma das imagens da base.

#### 4.5.2.2 Classificação de dados entre tortuoso e reto

Para prosseguir com o experimento, primeiro é necessária uma separação da base CORTEX entre duas classes: tortuoso e reto. Nesse experimento, usamos uma medida global de tortuosidade para cada imagem. Assim, calculamos o esqueleto de cada imagem binária da base CORTEX (vide Seção 4.5.2) por meio do método de esqueletização de Palàgyi e Kuba (1998). Dados os esqueletos binários, a tortuosidade global de cada imagem é calculada por meio de regressão linear, usando a metodologia descrita na Seção 4.4.

De toda a base CORTEX, selecionamos as 100 imagens com maior tortuosidade. Essas imagens constituem o conjunto de imagens tortuosas. De maneira semelhante, as

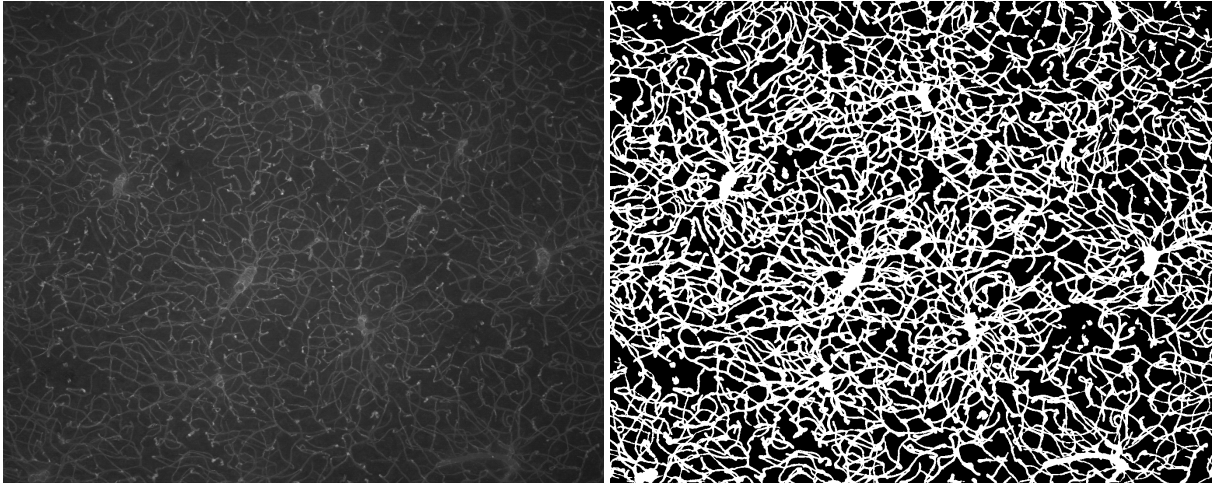


Figura 4.17 – Exemplo de binarização obtido pela metodologia de segmentação semi-supervisionada.

100 imagens com menor tortuosidade média foram adicionadas ao conjunto de imagens possuindo vasos sanguíneos majoritariamente retos. Por questões de desempenho, cada imagem foi dividida em 16 janelas de tamanho igual, resultando em um total de 1600 imagens para cada conjunto, cada qual com uma resolução de  $343 \times 276$  píxeis. Ainda, para remover mais um viés em nossos treinamentos, nunca adicionamos janelas da mesma imagem simultaneamente nos conjuntos de treinamento, validação e teste.

#### 4.5.2.3 Criação e otimização de CNNs para segmentação de vasos sanguíneos

A primeira parte deste experimento consiste em otimizar uma CNN para realizar a segmentação dos vasos sanguíneos com performance similar à outros trabalhos da literatura. Como dito anteriormente, o nosso interesse é investigar situações de vieses relacionadas à morfometria de vasos sanguíneos classificados como tortuosos ou retos. Assim, para emular a situação descrita pela Figura 4.16 - A, otimizamos duas CNNs, cada uma *especializada* na segmentação de vasos retos, ou tortuosos. As Figuras 4.18 e 4.19 ilustram o procedimento de treinamento e refinamento utilizado nas redes especializadas. Cada rede especializada é obtida por meio de um treinamento inicial usando o conjunto de vasos correspondente (retos ou tortuosos). Esse treinamento é realizado por 30 épocas. 80% das imagens são utilizadas como conjunto de treinamento, 10% como conjunto de validação, e 10% como conjunto de teste. O treinamento é realizado utilizando o otimizador Adam (KINGMA; BA, 2017), tendo como função de custo a entropia cruzada (Equação 2.18). A taxa de aprendizagem foi ajustada usando a política *1cycle* (assim como no último experimento, descrito na Seção 4.5.1.2), com valor máximo de 0,0005.

O procedimento de treinamento e refinamento da *rede especializada em vasos retos* (REVR) é ilustrado pela Figura 4.18. Primeiro, a rede especializada em vasos retos é

otimizada usando seu respectivo conjunto de treinamento contendo vasos retos (Figura 4.18 - A). A rede é então aplicada no conjunto de teste contendo vasos retos (Figura 4.18 - B) para obtenção do conjunto de rótulos  $L_{se}$ . Posteriormente, o conjunto de tortuosidades médias de  $L_{se}$ , definido como  $T_{se}$ , é calculado a partir da esqueletização de Palàgyi e Kuba (1998) e pelo método descrito na Seção 4.4. De maneira semelhante, a *rede especializada em vasos tortuosos* (REVT) é treinada com dados tortuosos, e a partir de sua inferência, obtemos os conjuntos de rótulos  $L_{te}$  e tortuosidades médias  $T_{te}$  (Figura 4.19 - A, B).

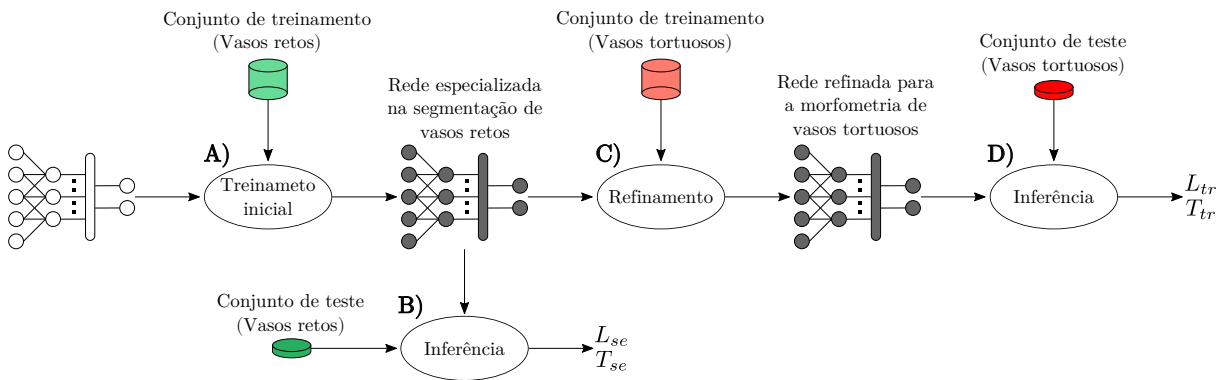


Figura 4.18 – Metodologia de treinamento e refinamento da rede especializada em vasos retos.

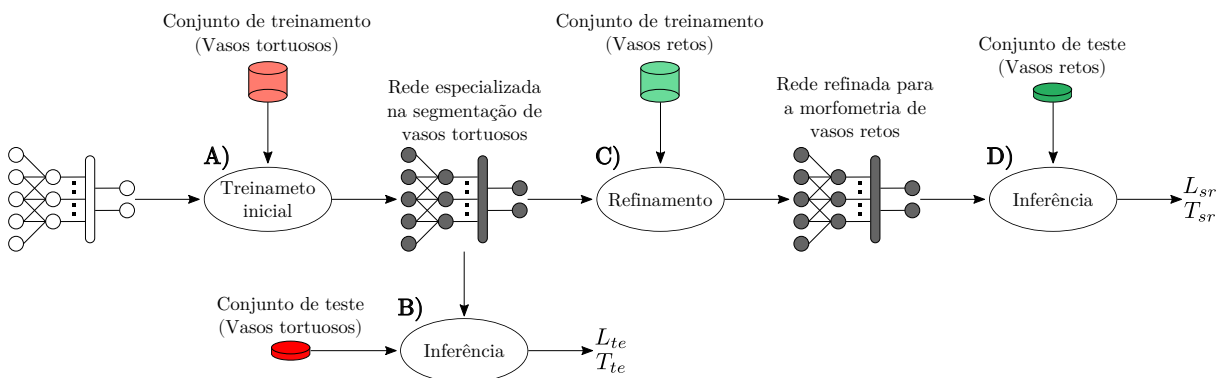


Figura 4.19 – Metodologia de treinamento e refinamento da rede especializada em vasos tortuosos.

#### 4.5.2.4 Refinamento das redes especializadas para a morfometria de vasos sanguíneos

A segunda parte de nosso experimento consiste em quantificar possíveis vieses na morfometria de vasos ao utilizar uma rede pré-treinada para realizar a segmentação dos mesmos. Assim como demonstrado pela situação hipotética da Figura 4.16 - B, redes pré-treinadas podem ser refinadas com o objetivo de expandir sua generalidade e melhorar

sua performance para um novo conjunto de dados. Nesse caso, o esforço necessário para efetuar esse refinamento está diretamente ligado ao número de marcações manuais necessárias para garantir que a segmentação mantenha as características morfológicas dos vasos imageados a partir das novas condições experimentais. Para avaliar esse esforço, comparamos a qualidade da segmentação e a preservação dos valores de tortuosidade à medida em que melhoramos o refinamento de uma rede que não foi originalmente otimizada para determinado conjunto de dados.

A abordagem de refinamento aplicada à REVR é explicada graficamente pela Figura 4.18. Como dito anteriormente, após a otimização inicial (Figura 4.18 - B), obtêm-se os conjuntos de rótulos  $L_{se}$  e tortuosidades médias  $T_{se}$ . A seguir, é realizada uma etapa de refinamento da REVR, utilizando o conjunto de treinamento oposto ao usado na otimização, nesse caso, o de vasos tortuosos (Figura 4.18 - C). Essa etapa de refinamento é executada na REVR por mais 15 épocas. Além disso, a abordagem de treinamento e os hiperparâmetros utilizados na etapa de criação e otimização foram mantidos. Após o refinamento, é realizada a inferência no conjunto de teste contendo vasos tortuosos. Assim, ao inferir o conjunto de vasos tortuosos na *rede refinada para vasos tortuosos* (Figura 4.18 - D), obtemos o conjunto de rótulos  $L_{tr}$  e tortuosidades médias  $T_{tr}$ . Esse procedimento de refinamento é aplicado igualmente à REVT, onde obtemos uma *rede refinada para vasos retos*, o conjunto de rótulos  $L_{sr}$ , e suas respectivas tortuosidades médias  $T_{sr}$  (Figura 4.19 - C, D).

A partir dos rótulos e dos mapas de tortuosidade obtidos pelas redes especializadas e refinadas, realizamos uma avaliação da qualidade da segmentação e da tortuosidade ao longo de refinamentos sucessivos da rede. Definimos a qualidade da segmentação pelo IoU entre os rótulos  $L_{sr}$  e  $L_{se}$ . Assim, para o caso dos vasos retos:

$$IoU_s = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N IoU(L_{sr}(i), L_{se}(i)), \quad (4.4)$$

onde  $L_{sr}(i)$  e  $L_{se}(i)$  representam respectivamente a  $i$ -ésima imagem dos conjuntos  $L_{sr}$  e  $L_{se}$ . Portanto,  $IoU(L_{sr}(i), L_{se}(i))$  define o  $IoU$  entre os rótulos obtidos pela rede treinada com vasos tortuosos e depois refinada com vasos retos ( $L_{sr}(i)$ ), e os rótulos obtidos pela rede treinada somente com vasos retos ( $L_{se}(i)$ ). Um valor baixo de  $IoU_s$  indica que o refinamento realizado na rede especializada em vasos tortuosos não foi suficiente para a rede atingir uma performance similar à rede que foi otimizada somente com vasos retos.

Equivalentemente, para o conjunto de vasos tortuosos:

$$IoU_t = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N IoU(L_{tr}(i), L_{te}(i)). \quad (4.5)$$

A qualidade da medição de tortuosidade também pode ser medida por uma caracteri-

zação similar. Para o conjunto de vasos retos, definimos:

$$R_s = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{T_{sr}(i)}{T_{se}(i)}. \quad (4.6)$$

Nesse caso, o termo  $T_{sr}(i)/T_{se}(i)$  quantifica a razão entre a tortuosidade média obtida a partir da rede treinada com dados tortuosos e refinada com dados retos ( $T_{sr}(i)$ ), em relação à tortuosidade média obtida ao utilizar a rede especializada em vasos retos ( $T_{se}(i)$ ). Valores de  $R_s$  diferentes de 1 indicam que há uma superestimação ou subestimação da tortuosidade dos vasos sanguíneos.

Equivalentemente, para os dados tortuosos:

$$R_t = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{T_{tr}(i)}{T_{te}(i)}. \quad (4.7)$$

Definidas essas medidas de qualidade, podemos procurar vieses de segmentação e medição de tortuosidade calculando os valores de tortuosidade e IoU relativos conforme aumentamos o número de imagens utilizadas para o refinamento. O número de imagens utilizadas para essa etapa foi variado entre 0 (sem refinamento algum) e 40 imagens. As imagens foram sorteadas aleatoriamente a partir dos conjuntos de teste. Para evitar um viés adicional causado pela aleatoriedade da seleção de um subconjunto das imagens de treinamento, as métricas de qualidade foram calculadas por meio da média de  $K$  execuções de refinamento, uma vez que um número menor de imagens no refinamento leva a maiores flutuações no resultado. Definimos  $K$  como:

$$K = \max\left(5, \frac{l}{2n}\right), \quad (4.8)$$

onde  $l$  representa o tamanho total do conjunto de treinamento e  $n$  o número de imagens utilizadas para o refinamento. Dessa forma, quanto menor  $n$ , maior o número de repetições utilizadas em nossa avaliação.

### 4.5.3 Uso de transformações elásticas para melhorar a estimação de tortuosidade

Os experimentos anteriores buscam aplicar uma etapa de refinamento para corrigir vieses de tortuosidade de uma rede pré-treinada em vasos obtidos a partir de condições experimentais distintas. Um problema com essa abordagem, é que a marcação manual de vasos é uma tarefa custosa, especialmente ao trabalhar com imagens em 3D. Assim, mesmo se obtivermos sucesso com nossa abordagem de refinamento, podem haver situações que exijam um número impraticável de marcações manuais, dependendo da arquitetura de rede e base de dados utilizada. Uma outra dificuldade nesse tipo de refinamento, é quando a rede precisa generalizar melhor para o conjunto de vasos tortuosos. Nesse caso,

vasos tortuosos geralmente são marcadores de doenças, sendo necessário esforço maior para desenvolver, imagear, e rotular indivíduos possuindo a doença sendo estudada. Dito isso, é benéfico o desenvolvimento de técnicas que permitam melhorar a generalizabilidade de uma rede usando *o menor número de marcações manuais possível*.

A melhora na capacidade de generalização de redes neurais já é estudada há algum tempo. O problema mais comum nesse quesito é o *overfitting*, onde uma rede que apresenta boa otimização para o conjunto de treinamento não consegue performar tão bem para um conjunto de testes nunca antes apresentado à ela. No quesito de quantidade de dados, grande parte dos trabalhos de AP sofrem com o número de dados marcados disponíveis (SHORTEN; KHOSHGOFTAAR, 2019). Tal problema motivou os pesquisadores a desenvolver durante os anos várias técnicas de aumento de dados, que visam expandir o conjunto de dados original por meio de transformações. Essas transformações permitem à rede aprender padrões não presentes nos dados originais, e por consequência, melhoram sua capacidade de generalização. Dito isso, investigaremos uma abordagem para aumentar a capacidade de generalização de uma rede especializada em segmentar vasos sanguíneos, tendo disponíveis apenas marcações manuais de vasos majoritariamente retos. Fazemos isso aplicando aumento de dados na base de vasos retos por meio de transformações elásticas, um tipo de transformação capaz de distorcer tais vasos e dar a eles uma aparência mais tortuosa (vide Seção 2.5).

Essa metodologia de aumento de dados foi empregada em duas situações diferentes. Primeiro aplicamos o aumento de dados no conjunto de treinamento da rede, com o objetivo de treiná-la do zero já com um conjunto de dados mais geral, ou seja, abrangendo um conjunto maior de vasos possuindo tortuosidade elevada. Em outro experimento, buscamos aumentar a generalizabilidade da rede usando aumento de dados no refinamento de uma rede pré-treinada. Assim, podemos avaliar também a possibilidade de aumentar a generalizabilidade de uma rede pré-treinada, de maneira semelhante aos experimentos da Seção 4.5.2.4, porém agora usando aumento de dados.

#### 4.5.3.1 Usando aumento de dados para treinar a rede do zero

Para avaliar nossa abordagem, criamos um conjunto de imagens a partir da aplicação de transformações elásticas no conjunto de vasos retos descritos na Seção 2.5, ao qual chamaremos de *vasos tortuosos falsos*. Em seguida, otimizamos uma rede neural com o conjunto de vasos tortuosos falsos e avaliamos a capacidade dessa rede em realizar a morfometria do conjunto real de vasos tortuosos. A abordagem de treinamento utilizada nesse caso foi a mesma empregada na construção das redes especializadas (vide Seção 4.5.2.3), incluindo arquitetura, hiperparâmetros, e número de épocas. Após o treinamento e a inferência do conjunto de teste, para cada imagem inferida é obtida sua tortuosidade média  $T_{ET}$ . Assim, de maneira semelhante às equações 4.6 e 4.7, a tortuosidade relativa nesse experimento ( $R_{ET}$ ) é calculada a partir da razão de  $T_{ET}$  com a tortuosidade média

equivalente obtida pela REVT ( $T_{se}$ ), ou seja:

$$R_{ET} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{T_{ET}(i)}{T_{se}(i)}. \quad (4.9)$$

De maneira semelhante, os valores de  $IoU_{ET}$  também foram calculados.

#### 4.5.3.2 Usando aumento de dados para refinar uma rede pré-treinada

Como mencionado anteriormente, o aumento de dados também pode ser utilizado durante a etapa de refinamento de uma rede. Dessa forma, também verificamos a possibilidade de aumentar a capacidade de generalização de uma rede pré-treinada ao refiná-la usando o conjunto de vasos tortuosos falsos. Para esse experimento, ao invés de usar o conjunto de vasos tortuosos falsos para treinar a REVR desde o início, tentamos reverter sua especialização usando a metodologia de refinamento descrita na Seção 4.5.2.4. Assim, buscamos saber se os dados tortuosos falsos possuem a capacidade de melhorar a generalização de uma rede pré-treinada, tal qual o conjunto dos vasos tortuosos verdadeiros. Aqui, definimos o conjunto de vasos tortuosos falsos utilizando os valores de  $\alpha$  e  $\sigma$  da transformação elástica que melhor descrevem nosso conjunto de vasos tortuosos reais. Os resultados são integralmente descritos no próximo capítulo.



---

# Capítulo 5

## Resultados

---

*Neste capítulo, descrevemos os resultados obtidos a partir dos experimentos descritos na seção anterior, na mesma ordem ao qual foram inicialmente apresentados. Ao fim de cada subseção, dissertamos sobre a importância de tais resultados para o estado da arte na área.*

### 5.1 Impacto do realce na análise da tortuosidade de vasos sanguíneos gerados artificialmente

#### 5.1.1 Análise do modelo de geração de vasos artificiais

Os resultados desta seção são baseados em imagens de vasos sanguíneos geradas de acordo com o modelo descrito na Seção 4.3.1. A Figura 5.1 exibe alguns vasos criados por nosso gerador. Nota-se a diferença visual na estrutura do vaso ao variar diferentes parâmetros: sua curvatura torna-se mais abrupta ao aumentar sua tensão e sua largura é regulada pelo parâmetro de espessura. O terceiro parâmetro, suavidade, controla a transição de intensidades entre a região de vaso e o fundo da imagem. Percebe-se também que a suavidade do vaso de certa maneira aumenta sua largura, sendo assim, esse parâmetro deve ser combinado com a espessura para geração de vasos de diferentes calibres.

#### 5.1.2 Definição de métricas para quantificar problemas de realce

Para analisar possíveis problemas no realce das regiões de alta curvatura, é natural realizar primeiro uma inspeção visual utilizando diferentes ângulos de interesse. A Figura 5.2 mostra o resultado da aplicação do filtro de Frangi para vasos com diferentes ângulos de abertura. Como esperado, ângulos mais abertos (entre  $180^\circ$  e  $90^\circ$ ) são muito bem realçados pelo método, não apresentando falhas visíveis que poderiam atrapalhar futuras



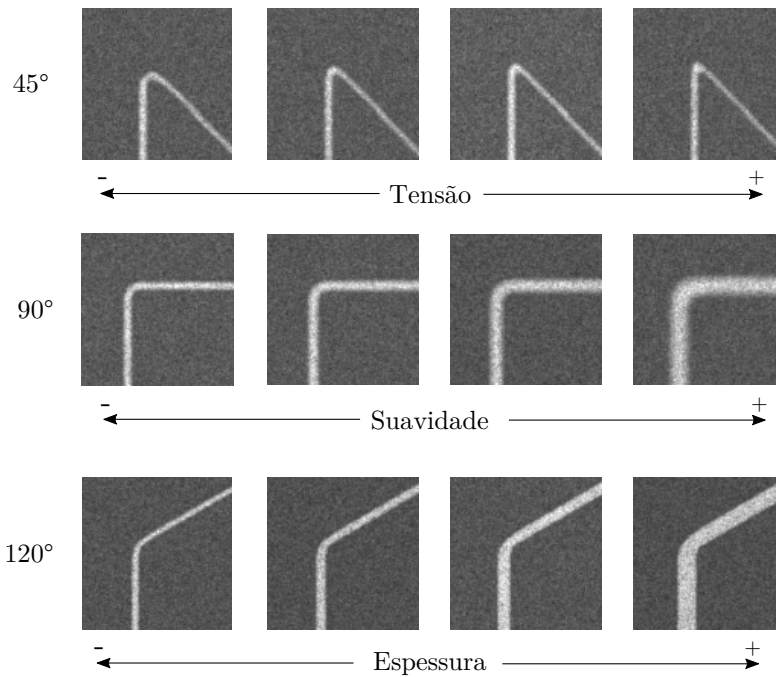


Figura 5.1 – Alguns exemplos de vasos criados por nosso gerador. Fonte: Próprio autor.

etapas de binarização. Já para ângulos mais fechados, como exemplos 45° e 25°, as regiões de alta curvatura não são reconhecidas como sendo tubulares pelo filtro de Frangi.

	180°	120°	90°	45°	25°
Original					
Realçado					

Figura 5.2 – Exemplos da diferença na qualidade de realce do filtro de Frangi para diferentes ângulos. Nota-se que os ângulos de 45° e 25° apresentam falsos negativos na região curvada. Fonte: Próprio autor.

Sabendo os ângulos que apresentam maiores problemas de realce, é possível buscar padrões de falsos negativos ao variar outros parâmetros do gerador. Deste modo, a Figura 5.3 exibe o comportamento do filtro de Frangi ao variar os parâmetros de tensão, espessura, suavidade e ruído em vasos com ângulo de 45° e 25°. Podem ser apontados dois problemas

de realce nesse exemplo. Primeiro, certos parâmetros criam desconexões ao longo do comprimento do vaso. Como um exemplo disso, temos o vaso em  $45^\circ$ : ao aumentar a tensão cria-se uma desconexão entre o segmento da vertical e da diagonal (Figura 5.3 - A), e de maneira semelhante, o aumento da espessura desse mesmo vaso causa uma separação em três partes ao ser realçado (Figura 5.3 - B). O segundo problema diz respeito ao fato da topologia do vaso realçado não condizer com o original. Nesse quesito, nota-se que nos vasos em  $25^\circ$  as regiões de alta curvatura tendem a apresentar pequenos buracos (Figura 5.3 - A, C e D) e falhas nas bordas (Figura 5.3 - B). Ainda, ao aumentar a suavidade e ruído dos vasos em  $45^\circ$ , certas regiões do mesmo ficam mais tênues do que deveriam, quase se desconectando. Em todos os casos aqui apresentados, o resultado final da segmentação, e conseqüentemente de uma etapa de esqueletização poderão não ser compatíveis com a topologia original do vaso, prejudicando análises morfológicas que venham a ser aplicadas nas imagens.

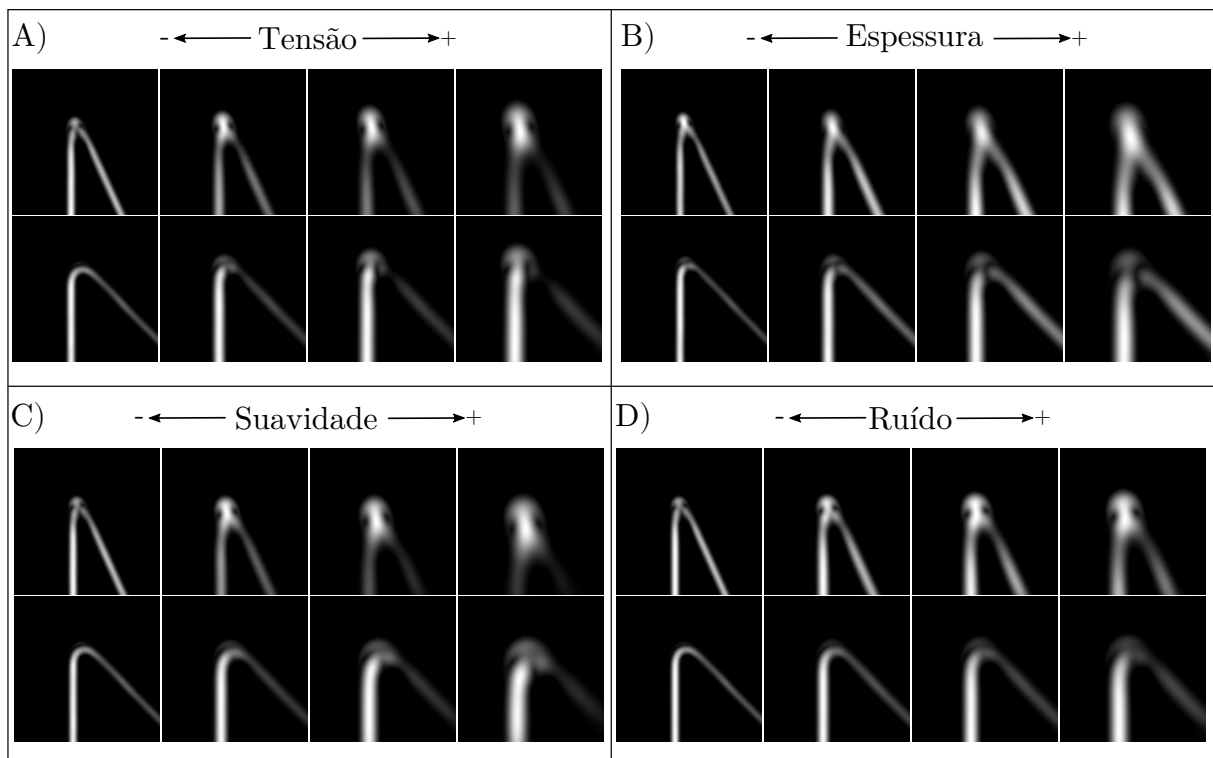


Figura 5.3 – Mais exemplos de como o filtro de Frangi pode gerar resultados não satisfatórios em curvas com ângulo pequeno. Nesse exemplo variamos os valores de tensão, espessura, suavidade e ruído, para ângulos de  $25^\circ$  (linhas superiores) e  $45^\circ$  (linhas inferiores). Fonte: Próprio autor.

Como um dos resultados desse experimento, buscamos investigar de maneira sistemática a ocorrência desses falsos negativos em regiões tortuosas, e para isso, é necessária a definição de medidas de qualidade para o realce dos vasos. Nossa primeira tentativa de definição dessas medidas buscou caracterizar a qualidade do realce a partir dos valores

de intensidade na região de alta curvatura. O resultado dessa análise é mostrado na Figura 5.4. Primeiramente, definimos três máscaras para a região de alta curvatura: vaso total, que compreende todos os píxeis pertencentes ao vaso na região curva; esqueleto, que contém os píxeis pertencentes ao esqueleto inicial definido na Seção 4.3.1 e que estão localizados na região de alta curvatura; e lúmen, que corresponde à região do esqueleto dilatado, também definido na Seção 4.3.1, considerada apenas no ponto de alta curvatura. Ao retirar o valor médio, máximo e o desvio padrão de intensidade do resultado do Filtro de Frangi em cada uma dessas máscaras, verifica-se que há uma queda brusca entre os valores de  $15^\circ$  a  $50^\circ$ .

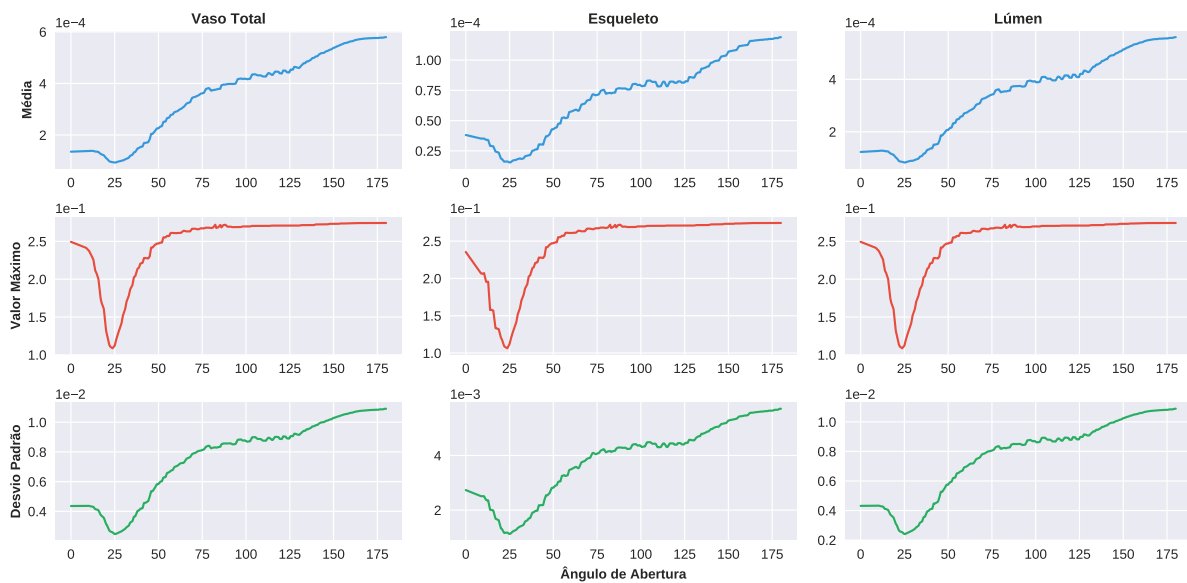


Figura 5.4 – Variação de intensidade nas regiões de alta curvatura dos vasos gerados artificialmente em função do ângulo de abertura. Fonte: Próprio autor.

Uma outra forma de analisar os valores de intensidade na região tortuosa é considerar o esqueleto do vaso sanguíneo como sendo uma curva de intensidades parametrizada ao longo da sua extensão. Essa abordagem é ilustrada na Figura 5.5. Ao observar os valores de intensidade de um realce perfeito (vaso reto), nota-se que a curva de intensidades tem valor constante (Figura 5.5 - A), ou seja, nesse exemplo não há qualquer artefato que prejudique a segmentação do vaso. Já para vasos que apresentam descontinuidades em sua extensão, sua curva de intensidades apresenta quedas, proporcionando uma representação gráfica da qualidade do realce.

Métricas de tortuosidade são fortemente impactadas pela qualidade do esqueleto do vaso. Portanto, escolhemos quantificar os problemas de realce do filtro de Frangi usando as informações de intensidade na região do esqueleto. Assim, para cada vaso artificial gerado, definimos duas regiões de interesse: *curva*, e *segmento reto*. A região de curva é definida pela região do esqueleto do vaso que está contida dentro do círculo usado para

formar a curva de Bézier que une os dois segmentos de vaso reto (vide Seção 4.3.1). Já o segmento reto do vaso é definido pela parte inicial do vaso que apresenta curvatura nula. Dessas regiões, duas métricas foram obtidas: *clDice* e *intensidade relativa*. O *clDice*, como apresentado na Seção 3.2, calcula a similaridade entre dois esqueletos. Nesse caso, calculamos o *clDice* entre o esqueleto gerado a partir do realce do vaso artificial pelo filtro de Frangi, e o esqueleto real utilizado para gerar o vaso artificial. Já a intensidade relativa é calculada pela razão entre o valor mínimo de intensidade na região do esqueleto da curva, e a mediana do esqueleto da região reta. Formalmente, sendo  $C = \{c_1, c_2, \dots, c_n\}$  o vetor que representa as intensidades do esqueleto da região curva do vaso, e  $R = \{r_1, r_2, \dots, r_n\}$  o vetor que contém as intensidades do esqueleto da região reta do vaso; a intensidade relativa (IR) dessa curva é definida por:

$$IR = \frac{\text{mínimo}(C)}{\text{mediana}(R)}. \quad (5.1)$$

### 5.1.3 Quantificação dos problemas de realce ao variar diferentes parâmetros do gerador

As Figuras 5.6 e 5.7 mostram os valores de IR e *clDice* obtidos após a aplicação do filtro de Frangi em vasos gerados com diferentes parâmetros, utilizando os modelos de ruído Gaussiano e Poisson, respectivamente. Ao variar somente o ângulo dos vasos, notam-se quedas dos valores de IR nos ângulos de  $\approx 25^\circ$ ,  $50^\circ$  e  $130^\circ$ . Nessa mesma situação, os valores de *clDice* também indicam problemas de segmentação nesses mesmos ângulos. Entretanto, mesmo com perda aparente de intensidade, o esqueleto é bem preservado fora desses ângulos chave, com valores de *clDice*  $\approx 1$ . Ao variar os outros parâmetros do gerador juntamente com o ângulo, observa-se um comportamento semelhante dos valores de IR, com pequenas variações.

Ao remover o ruído aplicado à imagem (em ambos os modelos de ruído), há uma leve melhora nos valores de IR. Ainda, o valor de *clDice* tende a ser alto para diferentes níveis de ruído, com exceção do ângulo  $\approx 25^\circ$ . Isso é um indicativo de que o ruído natural da imagem ajuda a preservar o comportamento do esqueleto do vaso, uma vez que diminui-se a homogeneidade dos valores de intensidade na região de curvatura. Essa discrepância dos valores de *clDice* é melhor observada no modelo de ruído Gaussiano.

No modelo de ruído Poisson, nota-se uma discrepância considerável nos valores de *clDice* ao aumentar a suavidade do vaso. Ainda, para ambos os modelos de ruído, aumentar a espessura faz com que vasos possuindo ângulo de  $\approx 25^\circ$  apresentem problemas notáveis de realce.

Algumas considerações interessantes podem ser feitas a partir dos resultados obtidos:

- O parâmetro mais sensível à problemas de segmentação pelo filtro de Frangi é o ângulo de abertura do vaso.

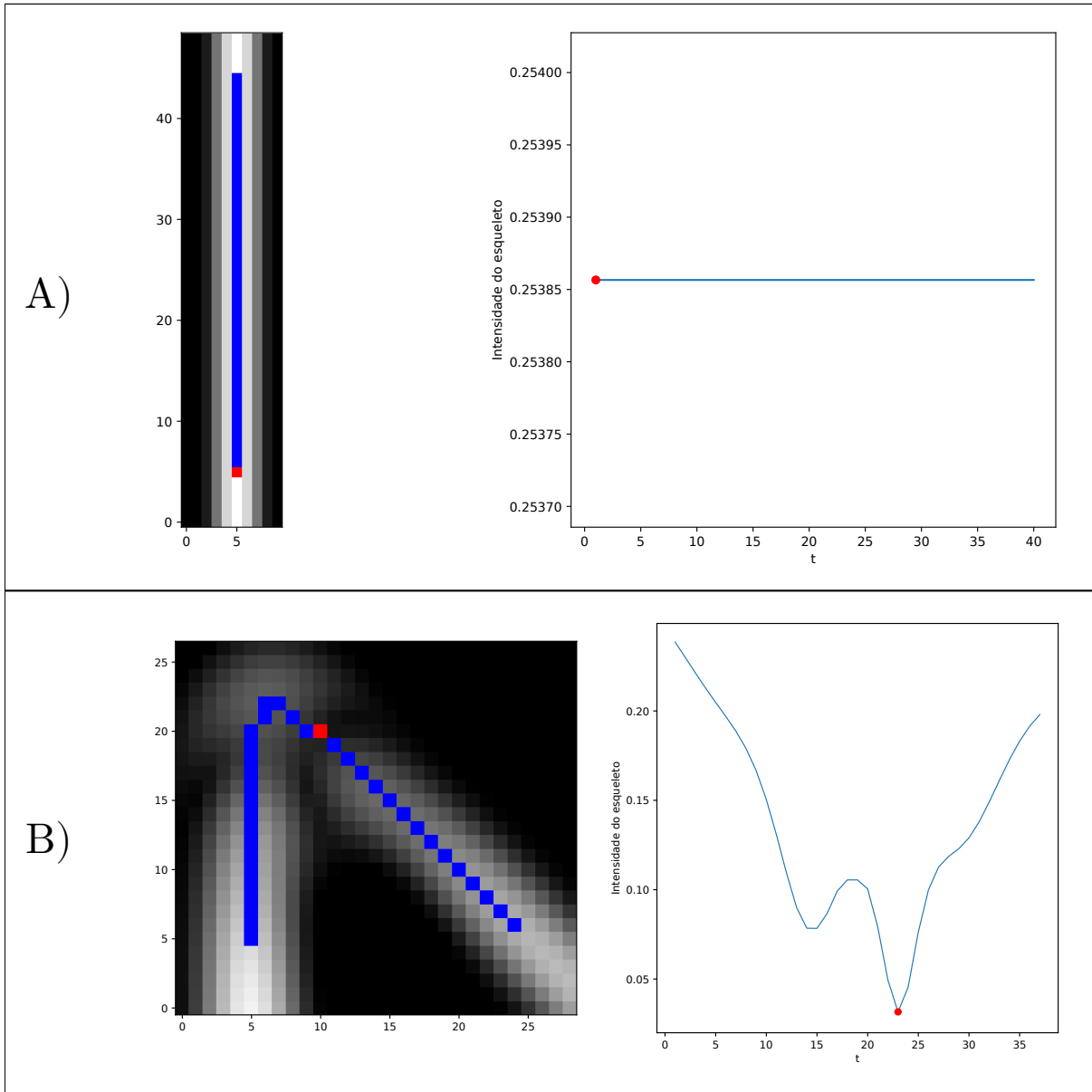


Figura 5.5 – Análise do esqueleto de vasos como sendo uma curva de intensidades parametrizada ao longo de sua extensão. (A) Exemplo de um vaso perfeitamente realçado ( $180^\circ$ ), com uma curva de intensidades constante. (B) Exemplo de um vaso que apresenta discontinuidades em seu realce ( $45^\circ$ ), provocando quedas em sua curva de intensidades. Os pontos vermelhos representam os pontos de menor valor na extensão do esqueleto. Fonte: Próprio autor.

- A qualidade do esqueleto calculado não é tão fortemente ligada à intensidade média dos vasos, e sim a problemas de desconexão. Por isso, valores de *clDice* próximos a 1 são obtidos fora dos ângulos  $25^\circ$ ,  $50^\circ$  e  $130^\circ$ , identificados como mais problemáticos.
- Analisar a qualidade do esqueleto (nesse caso, usando o *clDice*) permite obter mais dados a respeito de problemas de segmentação por conta de tortuosidade quando comparado à análise da intensidade do realce pelo Frangi.

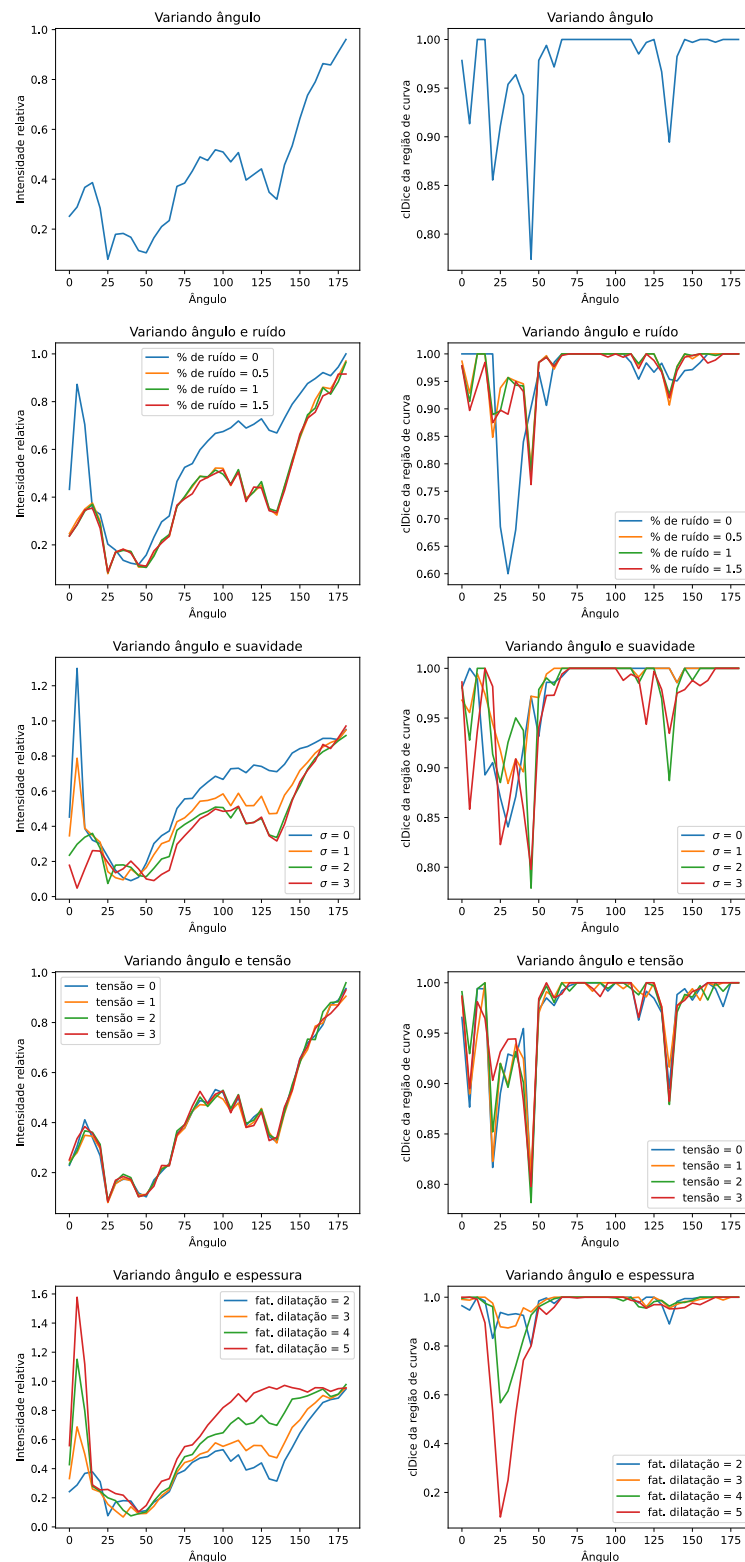


Figura 5.6 – Qualidade do realce do filtro de Frangi ao segmentar vasos com diferentes ângulos, usando o gerador de vasos artificiais com modelo de ruído Gaussiano. Além do ângulo, variamos os parâmetros de ruído, suavidade, tensão e espessura. Identificamos as falhas de realce usando as métricas de intensidade relativa e *cDice* da região de curva. Fonte: Próprio autor.

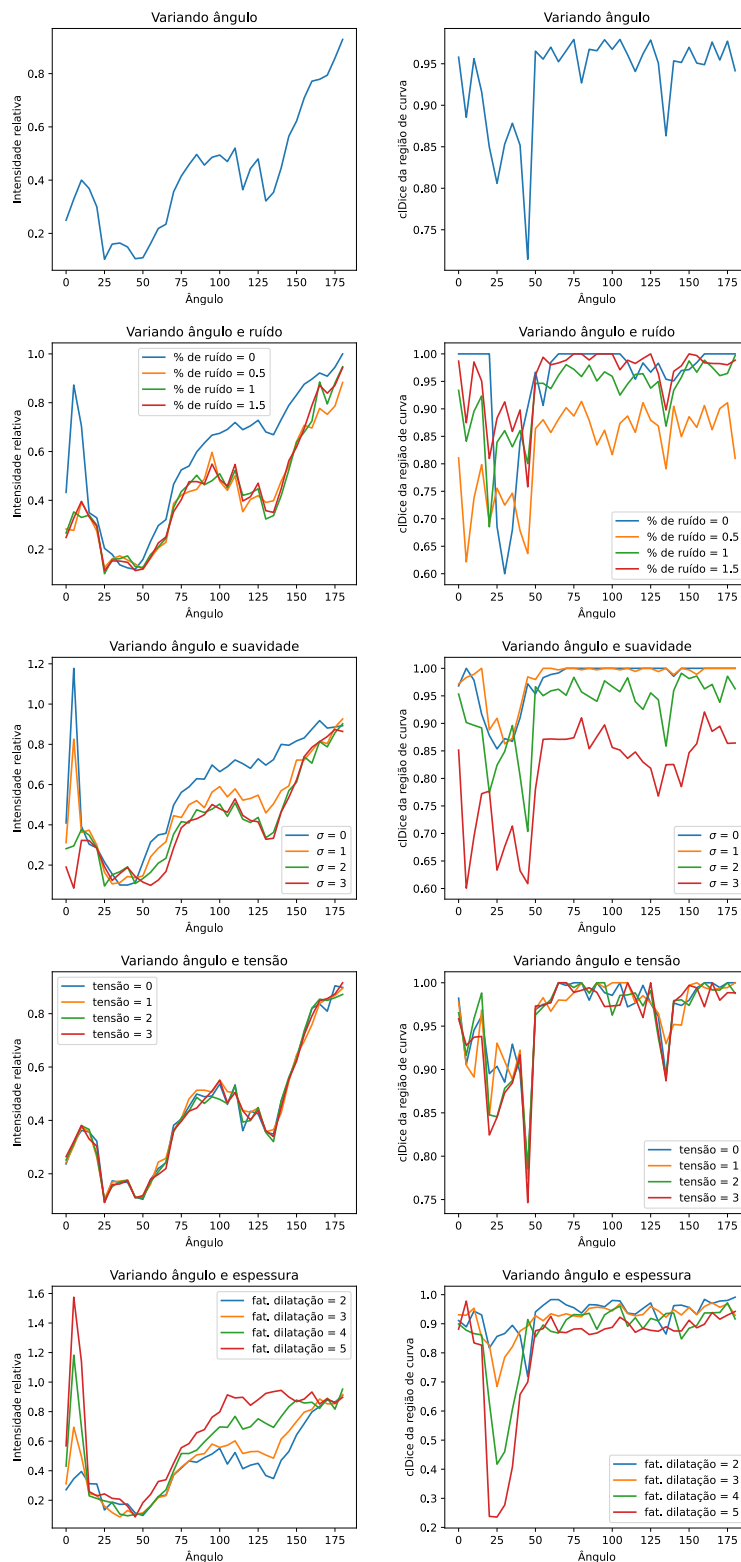


Figura 5.7 – Qualidade do realce do filtro de Frangi ao segmentar vasos com diferentes ângulos, usando o gerador de vasos artificiais com modelo de ruído Poisson. Além do ângulo, variamos os parâmetros de ruído, suavidade, tensão e espessura. Identificamos as falhas de realce usando as métricas de intensidade relativa e *cIDice* da região de curva. Fonte: Próprio autor.

- Os valores de IR apresentam comportamento semelhante em ambos os modelos de ruído, o que faz sentido, visto que o filtro de Frangi é robusto à ruídos (FRANGI et al., 1998). Os valores de *clDice* também apresentam comportamento semelhante em ambos os modelos, porém a curva de performance é ligeiramente mais ruidosa para o modelo de ruído Poisson.

## 5.2 Influência do conjunto de treinamento na tortuosidade de vasos sanguíneos segmentados por aprendizado profundo

### 5.2.1 Verificação de vieses de segmentação: base de dados DRIVE

Como dito anteriormente na Seção 4.5.1, inicialmente realizamos o treinamento da rede de três maneiras diferentes: (i) com todos os píxeis disponíveis na imagem, (ii) ignorando na função de custo os píxeis referentes a vasos retos, e (iii) ignorando na função de custo os píxeis referentes a vasos tortuosos. Após o treinamento, a qualidade da segmentação de cada modo foi comparada ao padrão ouro do conjunto de testes da base de dados DRIVE.

A Figura 5.8 mostra a qualidade da segmentação obtida para cada uma das 20 imagens do conjunto de testes. A métrica utilizada nesse caso foi a IoU. Nota-se que o treinamento realizado com ambos os conjuntos de vasos obteve, na maioria dos casos, melhor desempenho (16 das 20 imagens). Outro dado interessante é que o treinamento da rede considerando apenas vasos tortuosos na função de custo resultou em uma menor acurácia em quase todos os exemplos do conjunto de testes. Esses resultados são um indicativo que um conjunto de treinamento majoritariamente composto por vasos tortuosos pode alterar significativamente a qualidade dos métodos de segmentação por AP.

Analisamos também a tortuosidade média relativa ao padrão ouro. Essa métrica é definida pela razão entre a tortuosidade média obtida do padrão ouro – calculada por meio do mapa de tortuosidade –, e a tortuosidade média obtida pela segmentação – calculada por meio da intersecção entre a segmentação e o mapa de tortuosidade. Os valores de tortuosidade relativa obtidos pela segmentação do conjunto de testes da base DRIVE são mostrados na Figura 5.9. Nota-se que ao realizar o treinamento considerando apenas o conjunto de píxeis referentes a vasos tortuosos, os valores obtidos de tortuosidade média são superestimados ( $> 1$ ). Esse resultado é um indicativo de que uma base de dados com uma quantidade elevada de vasos tortuosos pode afetar a segmentação de maneira que haja uma superestimação dos valores de tortuosidade média. No caso em que a rede é treinada apenas com o conjunto de píxeis referentes a vasos retos, o resultado varia entre as imagens consideradas, mas há uma leve tendência de subestimação da tortuosidade.

Analisando os resultados, podemos perceber que há um indicativo de que modificar



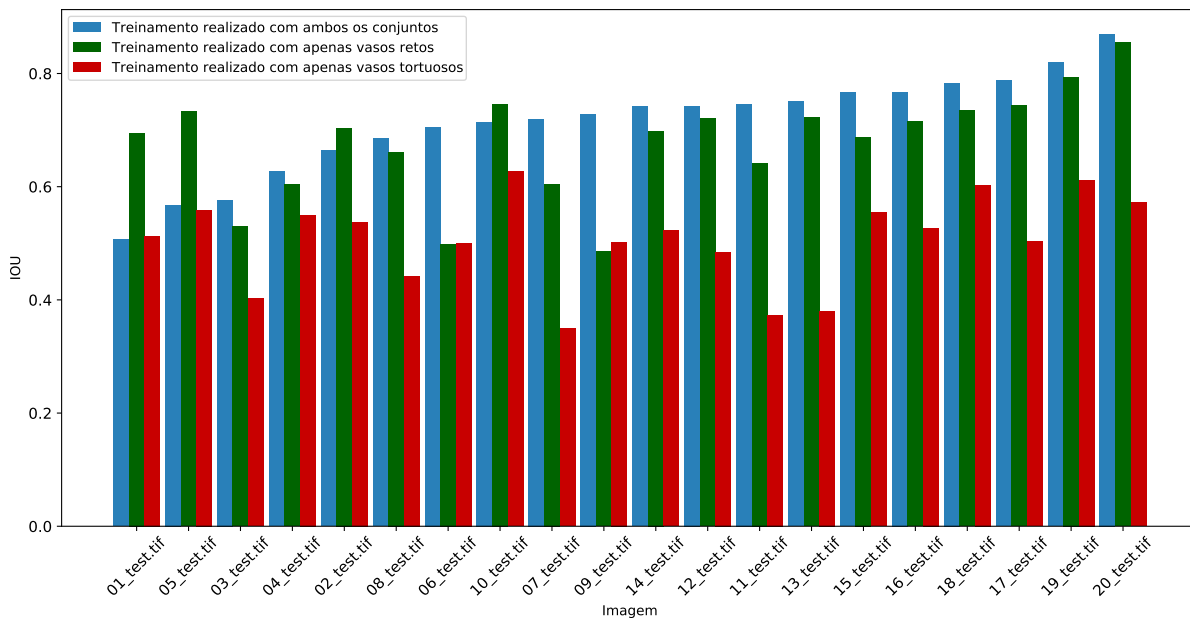


Figura 5.8 – Qualidade da segmentação dos vasos da retina ao variar o conjunto de treinamento. Fonte: Próprio autor.

a base de dados para ter mais vasos tortuosos afeta consideravelmente a capacidade de generalização de um método de segmentação por AP. Portanto, cuidado deve ser tomado na utilização de modelos pré-treinados para aplicação em bases de dados distintas.

É importante ressaltar que esses resultados compreendem nossos experimentos iniciais a respeito do impacto do conjunto de treinamento na morfometria de vasos sanguíneos. Uma análise mais completa nesse tópico foi feita pelos experimentos com a base CORTEX, que possui mais imagens do que a base DRIVE e, portanto, possibilita a obtenção de resultados mais significativos. Esses resultados serão explicados na próxima subseção.

## 5.2.2 Quantificação de vieses de tortuosidade em redes pré-treinadas: base de dados CORTEX

### 5.2.2.1 Desempenho das redes especializadas

Como dito na Seção 4.5.2.3, duas CNNs (REVT e REVR) foram otimizadas para a segmentação de vasos tortuosos ou retos. Após o treinamento, a REVR obteve um IoU médio de 0,8882 e um DSC médio de 0,9405. Já a REVT, obteve um IoU médio de 0,9158 e um DSC médio de 0,9553. Esses resultados são comparáveis com o desempenho obtido por outros trabalhos na literatura que tratam da segmentação de vasos sanguíneos imageados por microscopia confocal (TODOROV et al., 2020; TAHIR et al., 2021). A Figura 5.10 demonstra exemplos dos resultados obtidos pelas CNNs em comparação aos rótulos obtidos pela metodologia descrita na Seção 4.5.2.

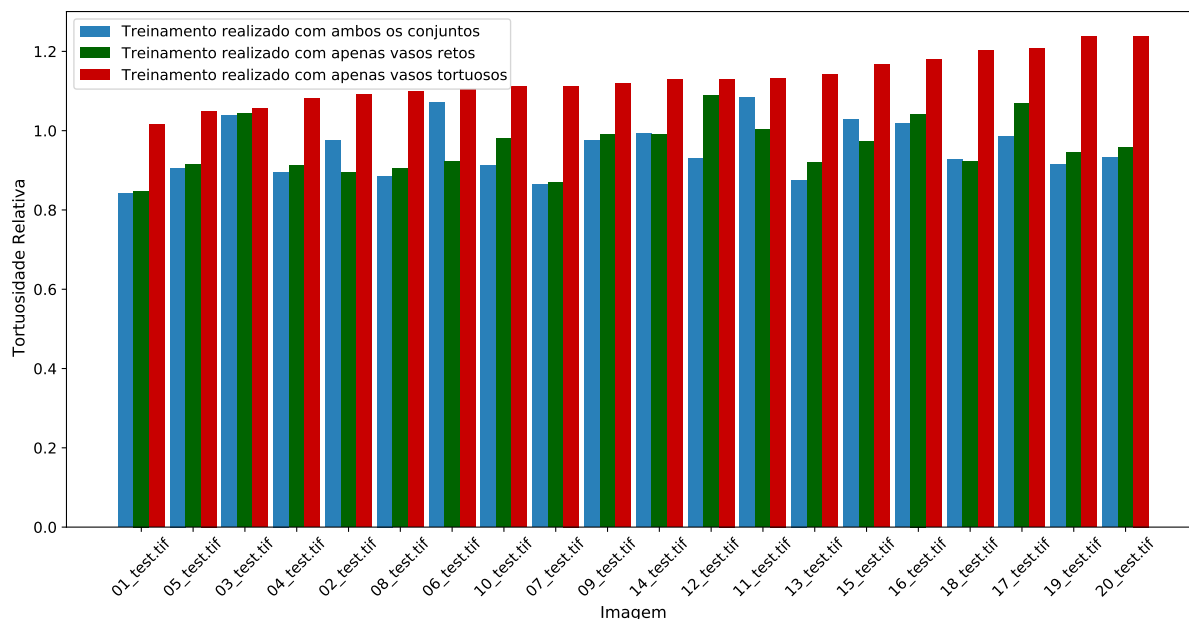


Figura 5.9 – Tortuosidade relativa das imagens segmentadas quando comparadas ao padrão ouro. Fonte: Próprio autor.

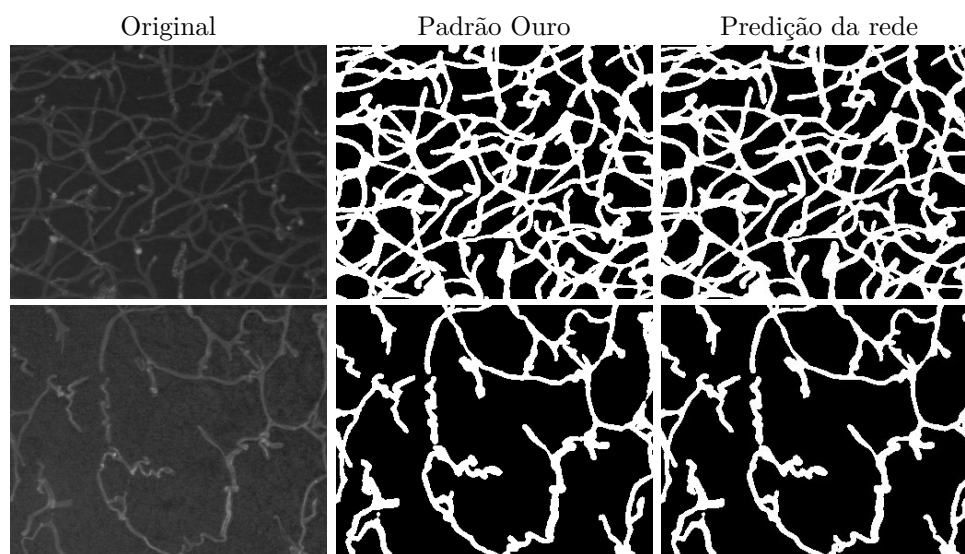


Figura 5.10 – Exemplos de segmentações obtidas pelas nossas redes especializadas. A linha superior demonstra um exemplo de segmentação de vasos majoritariamente retos segmentados pela REVR. A linha inferior demonstra um exemplo de segmentação de vasos predominantemente tortuosos pela REVT.

### 5.2.2.2 Refinamento das redes especializadas para a morfometria de vasos sanguíneos

Após a otimização das redes especializadas, testamos a capacidade de cada uma delas em segmentar dados aos quais elas não foram originalmente propostas. Nesse caso, ao utilizar a REVR para segmentar vasos tortuosos, foi obtido um IoU médio de 0,6825 e

um DSC médio de 0,8050. De maneira similar, ao segmentar vasos retos com a REVT, obtivemos um IoU médio de 0,6516 e um DSC médio de 0,7759. A Figura 5.11 demonstra exemplos típicos dessa segmentação cruzada, com alguns artefatos visíveis que podem impactar a morfometria desses vasos. Por exemplo, ao segmentar vasos predominantemente tortuosos com a REVR (Figura 5.11 - B), nota-se a formação de pequenos componentes conexos não visíveis no rótulo original (Figura 5.11 - A). Tais componentes conexos representam falsos positivos na imagem de saída, que levam à uma alta revocação e baixa precisão dos resultados. Especulamos que esses componentes estejam associados ao fato de que a REVR classifique regiões de intensidade contínua como vasos sanguíneos, já que vasos retos tendem a não possuir descontinuidades de intensidade longitudinalmente. De maneira semelhante, a Figura 5.11 - D demonstra o resultado da segmentação de vasos majoritariamente retos pela REVT. Ao compará-la com o rótulo original (Figura 5.11 - C), é possível observar uma considerável subestimação da espessura desses vasos, agora associada à alta precisão e baixa revocação.

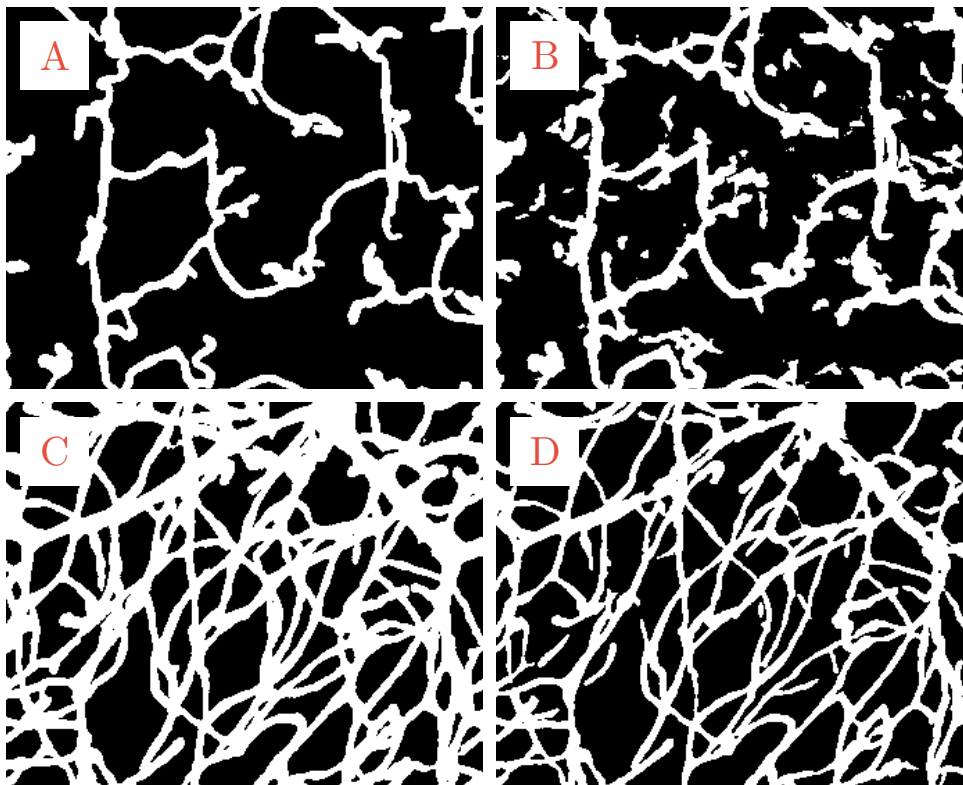


Figura 5.11 – Artefatos observados ao segmentar vasos sanguíneos usando redes treinadas com características diferentes de tortuosidade. (A) Imagem contendo vasos majoritariamente tortuosos. (B) Segmentação de A, obtida pela rede especializada em vasos retos. (C) Imagem contendo vasos predominantemente retos. (D) Segmentação de C, obtida pela rede especializada em vasos tortuosos.

Tendo feito a caracterização inicial desses problemas de segmentação, prosseguimos com a tentativa de reverter esses vieses por meio do refinamento das redes especializadas. Dessa forma, como apresentado na Seção 4.5.2.4, cada rede especializada é submetida à

etapas de refinamento possuindo diferentes números de imagens anotadas. A Figura 5.12 demonstra o desempenho da REVT em segmentar vasos retos, à medida em que ela passa por uma etapa de refinamento com cada vez mais exemplos de vasos retos. Nota-se que os valores de  $IoU_s$  melhoram ao apresentar cada vez mais imagens de vasos retos à rede pré-treinada. Por outro lado, os valores de  $R_s$  não se desenvolvem da mesma maneira. Nesse caso, a tortuosidade é superestimada até que o número de imagens utilizadas no refinamento seja próximo a 13. Ao utilizar um número maior de imagens, o valor de  $R_s$  se estabiliza próximo a 1. É importante destacar também, que as curvas de  $IoU_s$  e  $R_s$  não se correlacionam. Isso é um indicativo de que melhorias em medidas de acurácia pixel-a-píxel não necessariamente levam a melhorias na estimação de tortuosidade. Vale ressaltar que após realizar o refinamento com determinado número de imagens (eixo  $x$  da Figura 5.12) a rede pré-treinada é restaurada para o estado no qual não havia qualquer refinamento aplicado à ela. Sendo assim, cada ponto desse gráfico representa um refinamento distinto da rede.

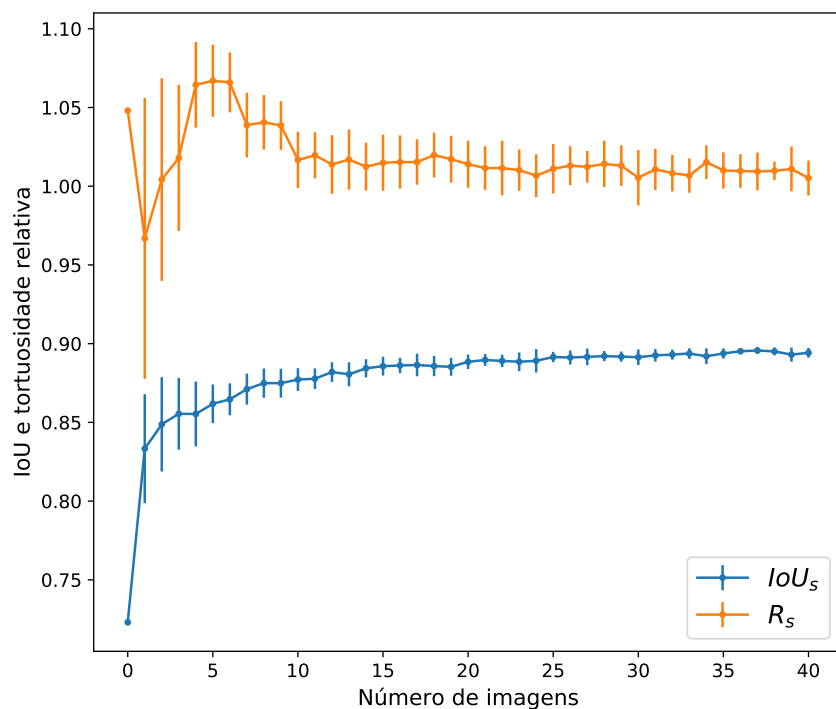


Figura 5.12 – Desempenho da REVT ao segmentar vasos retos, à medida em que a rede passa por uma etapa de refinamento com cada vez mais vasos retos. Cada ponto do gráfico representa os valores médios de  $IoU_s$  e  $R_s$  ao executar o experimento de refinamento  $K$  vezes, assim como definido pela Equação 4.8. As barras de erro representam o desvio padrão de  $IoU_s$  e  $R_s$  para as  $K$  repetições.

A Figura 5.13 exibe o desempenho da REVR ao segmentar vasos tortuosos, ao passo

em que a rede passa por uma etapa de refinamento com cada vez mais vasos tortuosos. Primeiro, nota-se que à medida em que o refinamento progride, ambos os valores de  $IoU_t$  e  $R_t$  crescem de maneira similar. Ainda,  $IoU_t$  melhora consideravelmente com poucas imagens utilizadas no refinamento. Nesse caso, foi possível obter uma IoU média de aproximadamente 0,9 com um refinamento de apenas 10 imagens, em contraste com as 40 imagens necessárias para obter o mesmo desempenho no exemplo anterior (vide Figura 5.12). Vasos retos podem ser vistos como vasos sanguíneos mais simples, dada a ausência de discontinuidades de intensidade em sua extensão, e nesse exemplo, uma rede treinada com vasos retos rapidamente adaptou-se a nova morfologia de vasos ao ser apresentada a exemplos de vasos tortuosos. Assim, esse resultado suporta a hipótese de que é mais fácil treinar a rede a reconhecer vasos mais complexos a partir de uma representação mais simples, do que treinar a rede a simplificar uma representação mais complexa de vaso.

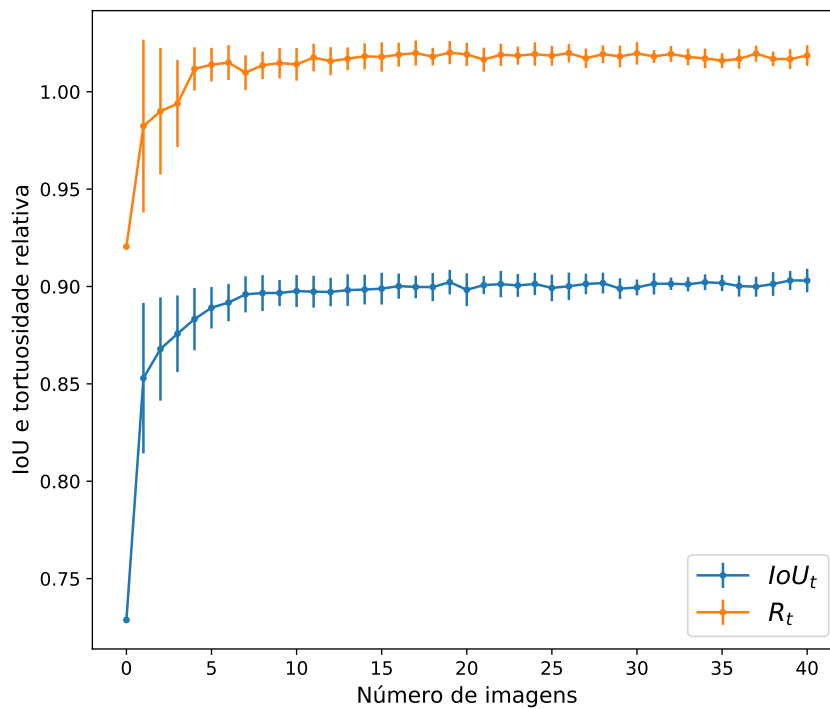


Figura 5.13 – Desempenho da REVR ao segmentar vasos tortuosos, à medida em que a rede passa por uma etapa de refinamento com cada vez mais vasos tortuosos. Cada ponto do gráfico representa os valores médios de  $IoU_t$  e  $R_t$  ao executar o experimento de refinamento  $K$  vezes, assim com definido pela Equação 4.8. As barras de erro representam o desvio padrão de  $IoU_t$  e  $R_t$  para as  $K$  repetições.

Os resultados dos experimentos realizados com as redes especializadas demonstram que ambas as redes REVR e REVT possuem a capacidade de segmentar dados fora de distribuição (ou seja, fora do domínio no qual a rede foi treinada) com acurácia similar

na ausência de refinamento. Porém, comportamentos diferentes foram observados para cada rede, resultando na subestimação ou superestimação dos valores de tortuosidade, dependendo do tipo de imagem utilizada no refinamento. A REVT superestimou os valores globais de tortuosidade do conjunto de vasos retos em aproximadamente 8%. De maneira similar, a REVR subestimou os valores globais de tortuosidade do conjunto de vasos tortuosos em aproximadamente 5%. Além disso, foi observado que uma etapa de refinamento com novos dados podem mitigar vieses de tortuosidade observados.

### 5.2.2.3 Aplicando aumento de dados para treinar a rede do zero

A Figura 5.14 exibe a performance obtida pela rede treinada com o conjunto de vasos tortuosos falsos quando submetida à morfometria de vasos tortuosos reais. Primeiro, nota-se que variamos o valor de  $\alpha$  utilizado na transformação elástica. Dessa forma, pudemos avaliar quais os parâmetros da transformação elástica que melhor descrevem nossos dados tortuosos reais, ao mesmo tempo em que verificamos a qualidade da morfometria obtida pela rede. O valor de  $\sigma$  no entanto foi fixado em 4, já que a tortuosidade mostrou-se bastante sensível a essa variável, e modificá-la causa uma mudança indesejável na transformação. Portanto, observamos que manter  $\sigma = 4$  e variar o  $\alpha$  entre 0 e 70 abrange diversos exemplos de tortuosidade real encontrados em nossa base de dados. Uma queda considerável nos valores de  $R_{ET}$  é observada quando  $\alpha$  está entre 1 e 10. Por outro lado, para  $\alpha \geq 12$ , treinar com o conjunto de vasos tortuosos falsos melhora a estimativa de tortuosidade, quando comparada ao desempenho da rede especializada em vasos retos, ou seja, sem qualquer aumento de dados. O pico de qualidade é observado quando  $\alpha$  está ao redor de 60, com  $R_{ET} \approx 1$ . Outro ponto importante é a falta de correlação entre os valores de IoU e tortuosidade relativa. Isso fortalece a ideia de que melhoras na morfometria dos vasos não necessariamente se correlacionam com o aumento dos valores de medidas de acurácia pixel-a-pixel.

### 5.2.2.4 Aplicando aumento de dados para refinar uma rede pré-treinada

Neste caso, definimos o conjunto de vasos tortuosos falsos utilizando uma transformação elástica com  $\alpha = 64$  e  $\sigma = 4$ , isso porque esse valores obtiveram melhor performance no experimento anterior (vide Figura 5.14). Todos os outros parâmetros foram iguais aos utilizados no refinamento anterior aplicado à REVR. Os resultados são mostrados na Figura 5.15. Nota-se que ao contrário do experimento anterior, onde utilizamos aumento de dados para treinar a rede do zero, não há melhora considerável dos valores de  $IoU_t$  e  $R_t$ .

Algumas considerações podem ser feitas a partir desse resultado. Primeiro, a estratégia de aumento de dados na etapa de refinamento não foi capaz de diminuir os vieses de morfometria da REVR. Ainda, pode-se notar que as curvas  $IoU_t$  e  $R_t$  apresentam grandes barras de erro. O alto desvio padrão obtido indica que parte do conjunto de teste

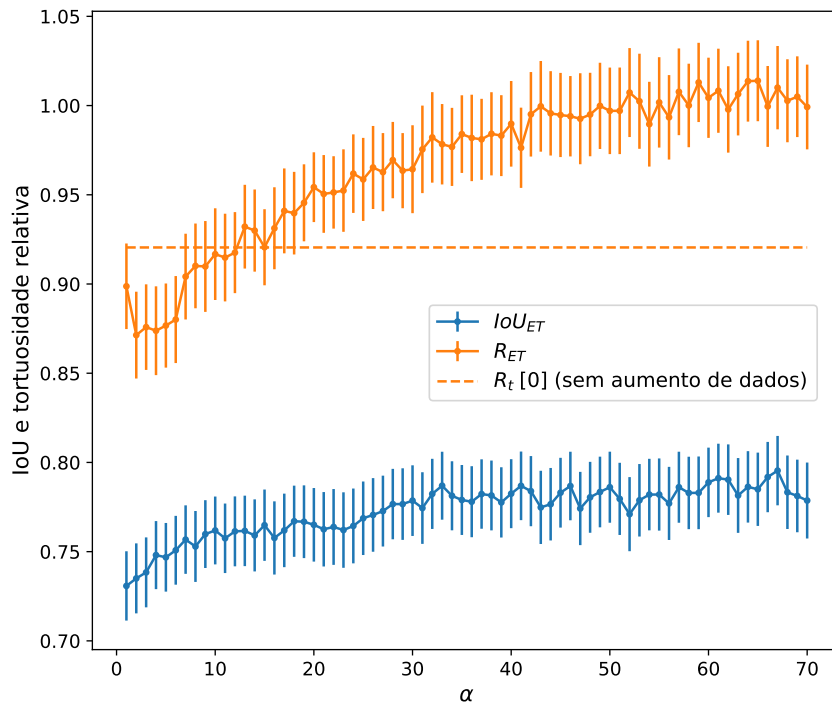


Figura 5.14 – Desempenho da rede treinada com o conjunto de vasos tortuosos falsos ao realizar a morfometria de vasos tortuosos reais.  $\alpha$  é o fator de escala usado na transformação elástica para obter o conjunto de vasos tortuosos falsos. As barras representam o erro padrão das médias dos valores de  $IoU_{ET}$  e  $R_{ET}$  obtidos a partir do conjunto de teste. A linha tracejada laranja representa o desempenho base da rede especializada em vasos retos ao segmentar vasos tortuosos (*i.e.* sem refinamento), como pôde ser visto na Figura 5.13.

obteve uma morfometria aceitável, ao passo que uma porção do mesmo resultou em uma performance bem abaixo da ideal.

É importante salientar que investigações adicionais poderiam ser realizadas a respeito do refinamento de redes pré-treinadas. Algumas possibilidades incluem modificar o agendador de taxa de aprendizagem para auxiliar o otimizador a encontrar uma solução que melhor generalize o conjunto de dados reais, aumentar o número de imagens empregadas no refinamento, e aplicar outras técnicas de aumento de dados.

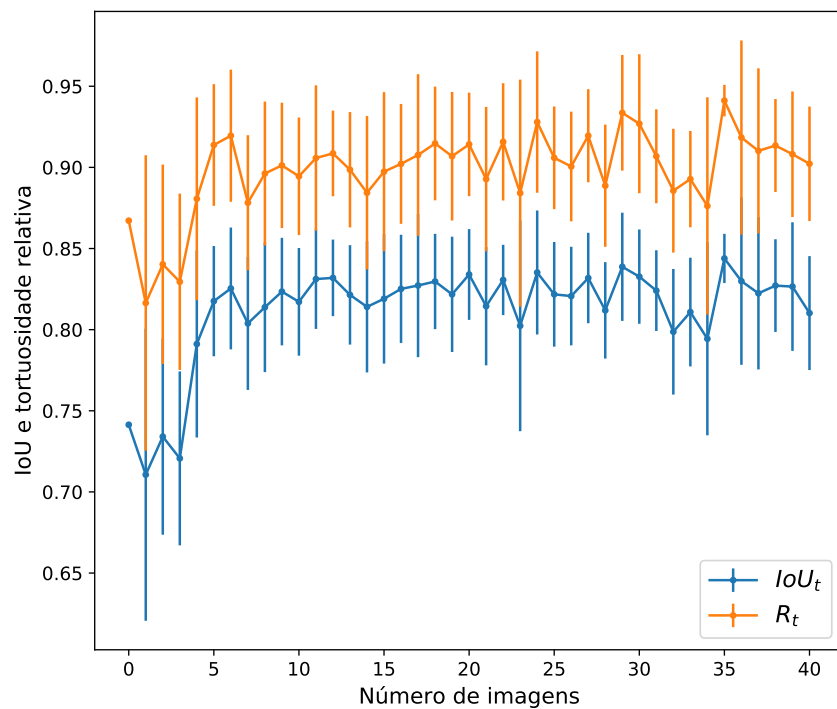


Figura 5.15 – Desempenho da rede especializada em vasos retos ao segmentar vasos tortuosos, à medida em que a rede passa por uma etapa de refinamento com cada vez mais vasos tortuosos falsos. Cada ponto do gráfico representa os valores médios de  $IoU_t$  e  $R_t$  ao executar o experimento de refinamento  $K$  vezes, assim como definido pela Equação 4.8. As barras de erro representam o desvio padrão de  $IoU_t$  e  $R_t$  para as  $K$  repetições.





---

## Capítulo 6

# Considerações Finais

---

*Neste capítulo, apresentamos as considerações finais deste trabalho. Descrevemos brevemente nossa justificativa inicial, experimentos realizados, resultados obtidos, e possíveis trabalhos futuros.*

A morfometria de vasos sanguíneos é de grande importância para a caracterização de anomalias no sistema cardiovascular. Entre os atributos estudados, a tortuosidade é considerada um importante marcador para patologias que obstruem o fluxo sanguíneo em determinado tecido. Porém, ao passo que metodologias automáticas de quantificação de tortuosidade em vasos sanguíneos vão sendo desenvolvidas, métodos tradicionais de realce e segmentação não garantem bom desempenho quando submetidos a conjuntos de vasos com tortuosidade anormal, o que poderia causar vieses na análise dos vasos estudados. Nesse sentido, o objetivo de nosso trabalho foi estudar a influência que a tortuosidade possui no resultado de diversas etapas do processamento digital de imagens de vasos sanguíneos. Para atingir esse objetivo, elaboramos experimentos que nos permitiram adquirir conhecimento a respeito da relação entre essas etapas, com enfoque principal no realce e segmentação dos vasos.

Foram realizados experimentos com o objetivo de quantificar os problemas de realce que podem ocorrer em regiões de vasos sanguíneos com diferentes níveis de tortuosidade. Para isso, projetamos um gerador de vasos sanguíneos artificiais que nos permitiu variar parâmetros que controlam a aparência dos vasos, e analisamos o resultado do realce pelo filtro de Frangi nessas estruturas tortuosas. Verificamos que é possível identificar “ângulos-chave” em que ocorrem maiores problemas de segmentação. Ainda, o uso da métrica *clDice* mostrou-nos que problemas no esqueleto do vaso ocorrem com maior intensidade nesses ângulos-chave.

Com o objetivo de entender a influência que o conjunto de dados possui em métodos de segmentação por AP, elaboramos um experimento que nos permite observar o impacto que

bases de dados enviesadas possui na morfometria de vasos. Nesse quesito, os resultados indicaram que o enviesamento da base de dados afeta de forma considerável a capacidade de generalização de um método de segmentação por AP. Completamos os experimentos com AP usando a base CORTEX, visto que ela possui um maior número de imagens e um melhor controle a respeito da tortuosidade dos vasos. Nesse experimento, verificamos a possibilidade de reverter a especialização de redes pré-treinadas utilizando dados obtidos a partir de uma nova condição experimental. Ademais, desenvolvemos uma metodologia de refinamento de redes pré-treinadas com vasos majoritariamente retos, o que possibilita a melhora de sua capacidade de generalização para vasos mais tortuosos, e reduz a necessidade de obter dados marcados manualmente.

Conseguimos ter uma boa ideia de como a tortuosidade dos vasos impacta sua segmentação, tanto pela filtragem mais clássica de Frangi, quanto por AP, área que recentemente ganhou bastante atenção dos pesquisadores. Em relação às metodologias de realce e segmentação discutidas nesse trabalho, nota-se que há vantagens e desvantagens para cada uma delas. Por ser um método não-supervisionado, o filtro de Frangi possui a vantagem de não precisar de marcação manual por especialistas. Ainda, seu processamento é bem mais rápido em comparação com o treinamento e refinamento de redes neurais. Assim, essa metodologia funciona muito bem para casos em que há a necessidade de obter características morfológicas de vasos em situações em que: (i) sabe-se que a base de dados não possui vasos com tortuosidade muito acentuada, e (ii) não é necessário obter informações dos pontos de bifurcação dos vasos. Por outro lado, caso a base de dados possua imagens marcadas, redes neurais saem-se muito bem na segmentação de diversos tipos de estruturas, incluindo vasos sanguíneos. Uma das vantagens das redes neurais em comparação à metodologias clássicas é justamente a capacidade de se adaptar aos dados, o que permite a segmentação completa também de estruturas mais tortuosas, e regiões de bifurcação. Porém, como demonstraram nossos resultados, é importante ter em mente a necessidade de *balancear corretamente o conjunto de dados levando em consideração as características morfológicas que se deseja estudar*.

Trabalhos futuros podem envolver uma melhora em nosso gerador de vasos artificiais para permitir um catálogo de vasos mais extenso – uma possibilidade já pensada, é o uso de transformações elásticas para simular tortuosidade e “achatamentos” que naturalmente ocorrem nos vasos. Há também a possibilidade de estudar mais a fundo as causas dos problemas de realce observados em ângulos específicos entre segmentos de vasos. Em relação aos experimentos com AP, é possível fazer novas análises a respeito do refinamento de redes usando dados artificiais. Possibilidades adicionais incluem a modificação dos hiperparâmetros de treinamento da rede e do agendador da taxa de aprendizagem, além da aplicação de outros tipos de transformação aos dados originais.

## Artigos desenvolvidos

Durante este projeto, foram desenvolvidos dois artigos que estão atualmente em revisão em periódicos internacionais:

- Matheus V. da Silva, Julie Ouellette, Baptiste Lacoste, Cesar H. Comin. An Analysis of the Influence of Transfer Learning When Measuring the Tortuosity of Blood Vessels. 2021. (SILVA et al., 2021)
- Moises Freitas-Andrade, Cesar H. Comin, Matheus Viana da Silva, Luciano Da F. Costa, Baptiste Lacoste. Unbiased analysis of mouse brain endothelial networks from two- or three-dimensional fluorescence images. 2021.



---

## Referências

---

ABDELSAID, M. et al. Dual endothelin receptor antagonism with bosentan reverses established vascular remodeling and dysfunctional angiogenesis in diabetic rats: Relevance to glycemic control. **Life Sciences**, v. 118, n. 2, p. 268 – 273, 2014. ISSN 0024-3205. Endothelin XIII - Proceedings of the Thirteenth International Conference on Endothelin, University of Tsukuba, Tokyo Campus, Tokyo, Japan, September 8-11, 2013. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002432051400071X>>.

ARCELLI, C.; Sanniti di Baja, G.; SERINO, L. Distance-Driven Skeletonization in Voxel Images. **IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence**, v. 33, n. 4, p. 709–720, 2011.

AZMITIA, E. C. et al. Persistent angiogenesis in the autism brain: An immunocytochemical study of postmortem cortex, brainstem and cerebellum. **Journal of Autism and Developmental Disorders**, v. 46, n. 4, p. 1307–1318, Apr 2016. ISSN 1573-3432. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10803-015-2672-6>>.

BADAR, M.; HARIS, M.; FATIMA, A. Application of deep learning for retinal image analysis: A review. **Computer Science Review**, v. 35, p. 100203, 2020. ISSN 1574-0137. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1574013719301327>>.

BAJA, G. S. di; SVENSSON, S. A new shape descriptor for surfaces in 3D images. **Pattern Recognition Letters**, v. 23, n. 6, p. 703–711, 2002. ISSN 0167-8655. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016786550100143X>>.

BOLDRINI, J. L. et al. **Álgebra Linear - 3ª edição**. [S.l.]: Habra, 1986.

BRANDT, J. W.; ALGAZI, V. Continuous skeleton computation by Voronoi diagram. **CVGIP: Image Understanding**, v. 55, n. 3, p. 329–338, 1992. ISSN 1049-9660. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/1049966092900307>>.

BULLITT, E. et al. Measuring tortuosity of the intracerebral vasculature from mra images. **IEEE Transactions on Medical Imaging**, v. 22, n. 9, p. 1163–1171, 2003.

BURBECK, C. A.; PIZER, S. M. Object representation by cores: Identifying and representing primitive spatial regions. **Vision Research**, v. 35, n. 13, p. 1917–1930, 1995. ISSN 0042-6989. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/004269899400286U>>.

- CARMO, M. P. do. **Differential geometry of curves and surfaces**. [S.l.]: Prentice-Hall, 1976.
- CHAN, T. F.; VESE, L. A. Active contours without edges. **IEEE Transactions on Image Processing**, v. 10, n. 2, p. 266–277, 2001. ISSN 1941-0042.
- CHEN, L. et al. Quantitative assessment of the intracranial vasculature in an older adult population using iCafe. **Neurobiology of Aging**, v. 79, p. 59–65, 2019. ISSN 15581497.
- ÇIÇEK, Ö. et al. 3D U-Net: Learning Dense Volumetric Segmentation from Sparse Annotation. **CoRR**, abs/1606.06650, 2016. Disponível em: <<http://arxiv.org/abs/1606.06650>>.
- CIURICĂ, S. et al. Arterial tortuosity: novel implications for an old phenotype. **Hypertension**, American Heart Association, v. 73, n. 5, p. 951–960, 2019.
- COONS, A. H.; CREECH, H. J.; JONES, R. N. Immunological properties of an antibody containing a fluorescent group. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 47, n. 2, p. 200–202, 1941. ISSN 15353699.
- COUPRIE, M.; COEURJOLLY, D.; ZROUR, R. Discrete bisector function and Euclidean skeleton in 2D and 3D. **Image and Vision Computing**, v. 25, n. 10, p. 1543–1556, 2007. ISSN 0262-8856. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0262885606003064>>.
- CRENSHAW, H. C.; CIAMPAGLIO, C. N.; MCHENRY, M. Analysis of the three-dimensional trajectories of organisms: Estimates of velocity, curvature and torsion from positional information. **Journal of Experimental Biology**, v. 203, n. 6, p. 961–982, 2000. ISSN 00220949.
- DALAL, N.; TRIGGS, B. Histograms of oriented gradients for human detection. In: **2005 IEEE Computer Society Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR'05)**. [S.l.: s.n.], 2005. v. 1, p. 886–893 vol. 1.
- DEY, T. K.; SUN, J. Defining and computing curve-skeletons with medial geodesic function. In: **Symposium on geometry processing**. [S.l.: s.n.], 2006. v. 6, p. 143–152.
- DICE, L. R. Measures of the Amount of Ecologic Association Between Species. **Ecology**, v. 26, n. 3, p. 297–302, 1945. Disponível em: <<https://esajournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2307/1932409>>.
- DMITRIEFF, S.; NÉDÉLEC, F. ConfocalGN: A minimalistic confocal image generator. **SoftwareX**, v. 6, p. 243–247, 2017. ISSN 2352-7110. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352711017300444>>.
- DOUGHERTY, G.; VARRO, J. A quantitative index for the measurement of the tortuosity of blood vessels. **Medical Engineering and Physics**, v. 22, n. 8, p. 567–574, 2000.
- DUAN, L.; HONG, Y.-J.; YASUNO, Y. Automated segmentation and characterization of choroidal vessels in high-penetration optical coherence tomography. **Opt. Express**, OSA, v. 21, n. 13, p. 15787–15808, jul 2013. Disponível em: <<http://www.opticsexpress.org/abstract.cfm?URI=oe-21-13-15787>>.

- EZE, C. U.; GUPTA, R.; NEWMAN, D. L. A comparison of quantitative measures of arterial tortuosity using sine wave simulations and 3D wire models. **Physics in Medicine and Biology**, v. 45, n. 9, p. 2593–2599, 2000. ISSN 00319155.
- FEI-FEI, L.; PERONA, P. A Bayesian hierarchical model for learning natural scene categories. In: **2005 IEEE Computer Society Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR'05)**. [S.l.: s.n.], 2005. v. 2, p. 524–531 vol. 2.
- FOLARIN, A. A. et al. Three-dimensional analysis of tumour vascular corrosion casts using stereoinaging and micro-computed tomography. **Microvascular Research**, Elsevier Inc., v. 80, n. 1, p. 89–98, 2010. ISSN 00262862.
- FRANGI, A. F. et al. Three-dimensional model-based stenosis quantification of the carotid arteries from contrast-enhanced MR angiography. In: **Proceedings IEEE Workshop on Mathematical Methods in Biomedical Image Analysis. MMBIA-2000 (Cat. No.PR00737)**. [S.l.: s.n.], 2000. p. 110–118.
- \_\_\_\_\_. Multiscale vessel enhancement filtering. In: **Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention — MICCAI'98**. [s.n.], 1998. p. 130–137. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/BFb0056195>>.
- GONZALES, R. C.; WOODS, R. E. **Digital image processing, 3rd edition**. [S.l.]: Pearson, 2008.
- GOODFELLOW, I.; BENGIO, Y.; COURVILLE, A. **Deep Learning**. [S.l.]: MIT Press, 2016.
- GRISAN, E.; FORACCHIA, M.; RUGGERI, A. A novel method for the automatic grading of retinal vessel tortuosity. **IEEE Transactions on Medical Imaging**, v. 27, n. 3, p. 310–319, 2008. ISSN 02780062.
- GUIDORIZZI, H. **Um Curso de Cálculo, Volume 1**. [S.l.]: Livros Técnicos e Científicos S.A., 2001.
- HAN, H.-C. Twisted blood vessels: Symptoms, etiology and biomechanical mechanisms. **Journal of Vascular Research**, v. 49, n. 3, p. 185–197, 2012. ISSN 10181172.
- HART, W. E. et al. Measurement and classification of retinal vascular tortuosity. **International Journal of Medical Informatics**, v. 53, n. 2-3, p. 239–252, 1999. ISSN 13865056.
- HAVAEI, M. et al. Brain tumor segmentation with Deep Neural Networks. **Medical Image Analysis**, v. 35, p. 18–31, 2017. ISSN 1361-8415. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1361841516300330>>.
- HE, K. et al. Deep residual learning for image recognition. In: **Proceedings of the IEEE conference on computer vision and pattern recognition**. [S.l.: s.n.], 2016. p. 770–778.
- HENEGHAN, C. et al. Characterization of changes in blood vessel width and tortuosity in retinopathy of prematurity using image analysis. **Medical Image Analysis**, v. 6, n. 4, p. 407–429, 2002. ISSN 13618415.



- ISSAC, A.; PARTHA SARATHI, M.; DUTTA, M. K. An adaptive threshold based image processing technique for improved glaucoma detection and classification. **Computer Methods and Programs in Biomedicine**, v. 122, n. 2, p. 229 – 244, 2015. ISSN 0169-2607. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169260715001996>>.
- JACCARD, P. Nouvelles recherches sur la distribution florale. **Bull. Soc. Vaud. Sci. Nat.**, v. 44, p. 223–270, 1908. Disponível em: <<https://ci.nii.ac.jp/naid/10020758887/en/>>.
- JHA, D. et al. Kvasir-SEG: A Segmented Polyp Dataset. In: RO, Y. M. et al. (Ed.). **MultiMedia Modeling**. Cham: Springer International Publishing, 2020. p. 451–462. ISBN 978-3-030-37734-2.
- JIN, Q. et al. DUNet: A deformable network for retinal vessel segmentation. **Knowledge-Based Systems**, v. 178, p. 149–162, 2019. ISSN 0950-7051. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0950705119301984>>.
- JOHNSON, M. J.; DOUGHERTY, G. Robust measures of three-dimensional vascular tortuosity based on the minimum curvature of approximating polynomial spline fits to the vessel mid-line. **Medical Engineering and Physics**, v. 29, n. 6, p. 677–690, 2007. ISSN 13504533.
- KASS, M.; WITKIN, A.; TERZOPOULOS, D. Snakes: Active contour models. **International Journal of Computer Vision**, v. 1, n. 4, p. 321–331, 1988. ISSN 1573-1405. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/BF00133570>>.
- KINGMA, D. P.; BA, J. **Adam: A Method for Stochastic Optimization**. 2017.
- KIRST, C. et al. Mapping the Fine-Scale Organization and Plasticity of the Brain Vasculature. **Cell**, v. 180, n. 4, p. 780 – 795.e25, 2020. ISSN 0092-8674. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867420301094>>.
- KLIŠ, K. M. et al. Computer-aided analysis of middle cerebral artery tortuosity: Association with aneurysm development. **Journal of Neurosurgery**, v. 130, n. 5, p. 1478–1484, 2019. ISSN 19330693.
- KOLLER, T. et al. Multiscale detection of curvilinear structures in 2-D and 3-D image data. In: **Proceedings of IEEE International Conference on Computer Vision**. IEEE Comput. Soc. Press, 1995. p. 864–869. ISBN 0-8186-7042-8. Disponível em: <<http://ieeexplore.ieee.org/document/466846/>>.
- KRIZHEVSKY, A.; HINTON, G. et al. Learning multiple layers of features from tiny images. Citeseer, 2009.
- KRIZHEVSKY, A.; SUTSKEVER, I.; HINTON, G. E. ImageNet Classification with Deep Convolutional Neural Networks. In: PEREIRA, F. et al. (Ed.). **Advances in Neural Information Processing Systems 25**. Curran Associates, Inc., 2012. p. 1097–1105. Disponível em: <<http://papers.nips.cc/paper/4824-imagenet-classification-with-deep-convolutional-neural-networks.pdf>>.
- LACOSTE, B. et al. Sensory-Related neural activity regulates the structure of vascular networks in the cerebral cortex. **Neuron**, Elsevier Inc., v. 83, n. 5, p. 1117–1130, 2014. ISSN 10974199. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2014.07.034>>.

- LANG, S. et al. Three-dimensional quantification of capillary networks in healthy and cancerous tissues of two mice. **Microvascular Research**, Elsevier Inc., v. 84, n. 3, p. 314–322, 2012. ISSN 00262862. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.mvr.2012.07.002>>.
- LAUFER, J. et al. In vivo preclinical photoacoustic imaging of tumor vasculature development and therapy. **Journal of Biomedical Optics**, v. 17, n. 5, p. 056016, 2012. ISSN 10833668.
- LEE, C.-Y. et al. **Deeply-Supervised Nets**. 2014.
- LEE, T.; KASHYAP, R.; CHU, C. Building skeleton models via 3-d medial surface axis thinning algorithms. **CVGIP: Graphical Models and Image Processing**, v. 56, n. 6, p. 462 – 478, 1994. ISSN 1049-9652. Disponível em: <"<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S104996528471042X>">.
- LESAGE, D. et al. A review of 3D vessel lumen segmentation techniques : Models, features and extraction schemes. **Medical Image Analysis**, Elsevier B.V., v. 13, n. 6, p. 819–845, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.media.2009.07.011>>.
- LEYMARIE, F. F.; KIMIA, B. B. Computation of the shock scaffold for unorganized point clouds in 3D. In: **2003 IEEE Computer Society Conference on Computer Vision and Pattern Recognition, 2003. Proceedings**. [S.l.: s.n.], 2003. v. 1, p. I–I.
- LI, H. et al. Visualizing the Loss Landscape of Neural Nets. **CoRR**, abs/1712.0, 2017. Disponível em: <<http://arxiv.org/abs/1712.09913>>.
- LIAN, S. et al. Attention guided U-Net for accurate iris segmentation. **Journal of Visual Communication and Image Representation**, v. 56, p. 296–304, 2018. ISSN 1047-3203. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1047320318302372>>.
- LINDEBERG, T. Edge detection and ridge detection with automatic scale selection. **International Journal of Computer Vision**, v. 30, n. 2, p. 117–156, Nov 1998. ISSN 1573-1405. Disponível em: <<https://doi.org/10.1023/A:1008097225773>>.
- LISKOWSKI, P.; KRAWIEC, K. Segmenting Retinal Blood Vessels With Deep Neural Networks. **IEEE Transactions on Medical Imaging**, v. 35, n. 11, p. 2369–2380, 2016.
- LOKMIC, Z.; MITCHELL, G. M. Visualisation and stereological assessment of blood and lymphatic vessels. **Histology and Histopathology**, v. 26, n. 6, p. 781–796, 2011. ISSN 02133911.
- LORTHOIS, S.; LAUWERS, F.; CASSOT, F. Tortuosity and other vessel attributes for arterioles and venules of the human cerebral cortex. **Microvascular Research**, Elsevier Inc., v. 91, p. 99–109, 2014. ISSN 10959319. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.mvr.2013.11.003>>.
- LOTMAR, W.; FREIBURGHAUS, A.; BRACHER, D. Measurement of vessel tortuosity on fundus photographs. **Albrecht von Graefes Archiv für Klinische und Experimentelle Ophthalmologie**, v. 211, n. 1, p. 49–57, 1979. ISSN 00656100.
- LOWE, D. G. Distinctive Image Features from Scale-Invariant Keypoints. **International Journal of Computer Vision**, v. 60, n. 2, p. 91–110, 2004. ISSN 1573-1405. Disponível em: <<https://doi.org/10.1023/B:VISI.0000029664.99615.94>>.

- MA, S. J. et al. Characterization of lenticulostriate arteries with high resolution black-blood T1-weighted turbo spin echo with variable flip angles at 3 and 7 Tesla. **NeuroImage**, v. 199, n. February, p. 184–193, 2019. ISSN 10959572.
- MARCON, L. et al. Pathological and histometric analysis of the gills of female *Hypheosobrycon eques* (Teleostei:Characidae) exposed to different concentrations of the insecticide Dimilin®. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 131, p. 135–142, 2016. ISSN 0147-6513. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0147651316301798>>.
- MARCUM, R. G.; WELLINGS, S. R. Subgross pathology of the human breast: Method and initial observations. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 42, p. 115–121, 1969.
- MARVIN, M. **Microscopy apparatus**. [S.l.]: Google Patents, 1961. US Patent 3,013,467.
- MATSUBARA, O. et al. Histometrical investigation of the pulmonary artery in severe hepatic disease. **The Journal of Pathology**, v. 143, n. 1, p. 31–37, 1984. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/path.1711430106>>.
- MILLETARI, F.; NAVAB, N.; AHMADI, S.-A. V-Net: Fully Convolutional Neural Networks for Volumetric Medical Image Segmentation. **CoRR**, abs/1606.04797, 2016. Disponível em: <<http://arxiv.org/abs/1606.04797>>.
- NOJIMA, S. et al. CUBIC pathology: three-dimensional imaging for pathological diagnosis. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–14, 2017. ISSN 20452322.
- OGNIEWICZ, R. L.; KÜBLER, O. Hierarchic Voronoi skeletons. **Pattern Recognition**, v. 28, n. 3, p. 343–359, 1995. ISSN 00313203. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/003132039400105U>>.
- OLAH, C.; MORDVINTSEV, A.; SCHUBERT, L. Feature visualization. **Distill**, 2017. <https://distill.pub/2017/feature-visualization>.
- OTSU, N. A threshold selection method from gray-level histograms. **IEEE Trans. on Systems, Man and Cybernetics**, v. 9, n. 1, p. 62–66, 1979.
- OUELLETTE, J. et al. Vascular contributions to 16p11.2 deletion autism syndrome modeled in mice. **Nature Neuroscience**, v. 23, n. 9, p. 1090–1101, 2020. ISSN 15461726. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41593-020-0663-1>>.
- PAETZOLD, J. C. et al. cDice—a novel connectivity-preserving loss function for vessel segmentation. In: **Medical Imaging Meets NeurIPS 2019 Workshop**. [S.l.: s.n.], 2019.
- PALÁGYI, K.; KUBA, A. A 3D 6-subiteration thinning algorithm for extracting medial lines. **Pattern Recognition Letters**, v. 19, n. 7, p. 613–627, 1998. ISSN 0167-8655. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167865598000312>>.
- PALÁGYI, K.; KUBA, A. Directional 3D thinning using 8 subiterations. **Lecture Notes in Computer Science (including subseries Lecture Notes in Artificial Intelligence and Lecture Notes in Bioinformatics)**, v. 1568, p. 325–336, 1999. ISSN 16113349.

\_\_\_\_\_. Parallel 3D 12-subiteration thinning algorithm. **Graphical Models and Image Processing**, v. 61, n. 4, p. 199–221, 1999. ISSN 10773169.

PANWAR, N. et al. Fundus Photography in the 21st Century—A Review of Recent Technological Advances and Their Implications for Worldwide Healthcare. **Telemedicine journal and e-health : the official journal of the American Telemedicine Association**, v. 22, n. 3, p. 198–208, mar 2016. ISSN 1556-3669 (Electronic).

PAWLEY, J. **Handbook of biological confocal microscopy**. [S.l.]: Springer Science & Business Media, 2006. v. 236.

PIZER, S. M.; THALL, A. L.; CHEN, D. T. **M-Reps: A New Object Representation for Graphics**. [S.l.], 2000.

PRAKASH, R. et al. Cerebral neovascularization and remodeling patterns in two different models of type 2 diabetes. **PLoS ONE**, v. 8, n. 2, 2013. ISSN 19326203.

PUDNEY, C. Distance-Ordered Homotopic Thinning: A Skeletonization Algorithm for 3D Digital Images. **Computer Vision and Image Understanding**, v. 72, n. 3, p. 404–413, 1998. ISSN 1077-3142. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1077314298906804>>.

RAMOS-VARA, J. Technical aspects of immunohistochemistry. **Veterinary Pathology**, v. 42, n. 4, p. 405–426, 2005.

RICHARDSON, D. S.; LICHTMAN, J. W. Clarifying tissue clearing. **Cell**, Elsevier, v. 162, n. 2, p. 246–257, 2015. ISSN 10974172.

RONNEBERGER, O.; FISCHER, P.; BROX, T. U-Net: Convolutional Networks for Biomedical Image Segmentation. In: NAVAB, N. et al. (Ed.). **Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention – MICCAI 2015**. Cham: Springer International Publishing, 2015. p. 234–241. ISBN 978-3-319-24574-4.

SATO, Y. et al. A viewpoint determination system for stenosis diagnosis and quantification in coronary angiographic image acquisition. **IEEE Transactions on Medical Imaging**, v. 17, n. 1, p. 121–137, 1998.

\_\_\_\_\_. Three-dimensional multi-scale line filter for segmentation and visualization of curvilinear structures in medical images. **Medical Image Analysis**, v. 2, n. 2, p. 143 – 168, 1998. ISSN 1361-8415. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1361841598800091>>.

SCHNEIDER, M. et al. Tissue metabolism driven arterial tree generation. **Medical Image Analysis**, v. 16, n. 7, p. 1397–1414, 2012. ISSN 1361-8415. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1361841512000576>>.

SHORTEN, C.; KHOSHGOFTAAR, T. M. A survey on Image Data Augmentation for Deep Learning. **Journal of Big Data**, v. 6, n. 1, p. 60, 2019. ISSN 2196-1115. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s40537-019-0197-0>>.

SILVA, M. V. da et al. **An Analysis of the Influence of Transfer Learning When Measuring the Tortuosity of Blood Vessels**. 2021.

SILVER, D.; CORNEA, N. D.; MIN, P. Curve-skeleton properties, applications, and algorithms. **IEEE Transactions on Visualization and Computer Graphics**, IEEE Computer Society, Los Alamitos, CA, USA, v. 13, n. 03, p. 530–548, may 2007. ISSN 1941-0506.

SIMARD, P.; STEINKRAUS, D.; PLATT, J. Best practices for convolutional neural networks applied to visual document analysis. In: **Seventh International Conference on Document Analysis and Recognition, 2003. Proceedings**. [S.l.: s.n.], 2003. p. 958–963.

SMEDBY, Ö. et al. Two-Dimensional tortuosity of the superficial femoral artery in early atherosclerosis. **Journal of Vascular Research**, v. 30, p. 181–191, 1993.

SMITH, L. N. A disciplined approach to neural network hyper-parameters: Part 1 - learning rate, batch size, momentum, and weight decay. **CoRR**, abs/1803.09820, 2018. Disponível em: <<http://arxiv.org/abs/1803.09820>>.

STRAKA, M. et al. The vesselglyph: Focus & context visualization in ct-angiography. In: **Proceedings of the Conference on Visualization '04**. Washington, DC, USA: IEEE Computer Society, 2004. (VIS '04), p. 385–392. ISBN 0-7803-8788-0. Disponível em: <<https://doi.org/10.1109/VISUAL.2004.104>>.

SVENSSON, S.; NYSTRÖM, I.; BAJA, G. S. di. Curve skeletonization of surface-like objects in 3D images guided by voxel classification. **Pattern Recognition Letters**, v. 23, n. 12, p. 1419–1426, 2002. ISSN 0167-8655. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167865502001022>>.

TAGLIASACCHI, A. et al. 3d skeletons : A state-of-the-art report. **Computer Graphics Forum**, Wiley, v. 35, n. 2, p. 573–597, 2016.

TAHIR, W. et al. Anatomical Modeling of Brain Vasculature in Two-Photon Microscopy by Generalizable Deep Learning. **BME Frontiers**, AAAS, v. 2021, p. 8620932, 2021. ISSN null. Disponível em: <<https://doi.org/10.34133/2021/8620932>>.

TETTEH, G. et al. DeepVesselNet: Vessel Segmentation, Centerline Prediction, and Bifurcation Detection in 3-D Angiographic Volumes. p. 1–13, 2018. Disponível em: <<http://arxiv.org/abs/1803.09340>>.

\_\_\_\_\_. DeepVesselNet: Vessel Segmentation, Centerline Prediction, and Bifurcation Detection in 3-D Angiographic Volumes. **Frontiers in Neuroscience**, v. 14, p. 1285, 2020. ISSN 1662-453X. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2020.592352>>.

TODOROV, M. I. et al. Machine learning analysis of whole mouse brain vasculature. **Nature Methods**, v. 17, n. 4, p. 442–449, 2020. ISSN 1548-7105. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41592-020-0792-1>>.

TONGPOB, Y. et al. Quantitative characterization of rodent fetoplacental vasculature morphology in micro-computed tomography images. **Computer Methods and Programs in Biomedicine**, Elsevier B.V., v. 179, p. 104984, 2019. ISSN 01692607. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2019.104984>>.



- WÄLCHLI, T. et al. Nogo-A regulates vascular network architecture in the postnatal brain. **Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism**, v. 37, n. 2, p. 614–631, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1177/0271678X16675182>>.
- WELLINGS, S. R.; JENSEN, H. M. On the origin and progression of ductal carcinoma in the human breast. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 50, n. 5, p. 1111–1118, 1973.
- WELLINGS, S. R.; JENSEN, H. M.; MARCUM, R. G. An atlas of subgross pathology of the human breast with special reference to possible precancerous lesions. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 55, n. 2, p. 231–273, 1975.
- WIEBE, B. M.; LAURSEN, H. Lung morphometry by unbiased methods in emphysema: bronchial and blood vessel volume, alveolar surface area and capillary length. **APMIS**, v. 106, n. 1-6, p. 651–656, 1998. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1699-0463.1998.tb01395.x>>.
- WILSON, C. M. et al. Computerized analysis of retinal vessel width and tortuosity in premature infants. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, v. 49, n. 8, p. 3577–3585, 2008. ISSN 01460404.
- WRIGHT, S. N. et al. Digital reconstruction and morphometric analysis of human brain arterial vasculature from magnetic resonance angiography. **NeuroImage**, Elsevier Inc., v. 82, n. 15, p. 170–181, 2013. ISSN 10538119. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2013.05.089>>.
- WU, Q.; MERCHANT, F. A.; CASTLEMAN, K. R. **Microscope Image Processing**. [S.l.]: Elsevier, 2008.
- YU, Q. et al. Recurrent Saliency Transformation Network: Incorporating Multi-stage Visual Cues for Small Organ Segmentation. In: **2018 IEEE/CVF Conference on Computer Vision and Pattern Recognition**. [S.l.: s.n.], 2018. p. 8280–8289.
- ZHANG, Y.; CHUNG, A. C. S. Deep Supervision with Additional Labels for Retinal Vessel Segmentation Task. In: FRANGI, A. F. et al. (Ed.). **Medical Image Computing and Computer Assisted Intervention – MICCAI 2018**. Cham: Springer International Publishing, 2018. p. 83–91. ISBN 978-3-030-00934-2.
- ZHAO, H. et al. Three-dimensional Hessian matrix-based quantitative vascular imaging of rat iris with optical-resolution photoacoustic microscopy in vivo. **Journal of Biomedical Optics**, SPIE, v. 23, n. 4, p. 1 – 11, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1117/1.JBO.23.4.046006>>.
- ZHAO, Q. et al. Quantitative analysis on in vivo tumor-microvascular images from optical-resolution photoacoustic microscopy. **Journal of Biophotonics**, v. 12, n. 6, p. 1–15, 2019. ISSN 18640648.
- ZINGL, A. A rasterizing algorithm for drawing curves. In: . [S.l.: s.n.], 2012.