

1 Introdução

A segmentação de imagens não triviais, como aquelas apresentadas na Figura 1.1, é considerada uma das tarefas mais difíceis em processamento de imagens e sua acurácia é fator determinante para o eventual sucesso ou fracasso de procedimentos de análise computadorizados [40]. É uma etapa fundamental e geralmente é utilizada como ponto de partida na maioria das tarefas que envolvem processamento e análise de imagens, tais como extração, contagem e reconhecimento de objetos, classificação de imagens e visão computacional, dentre outros.

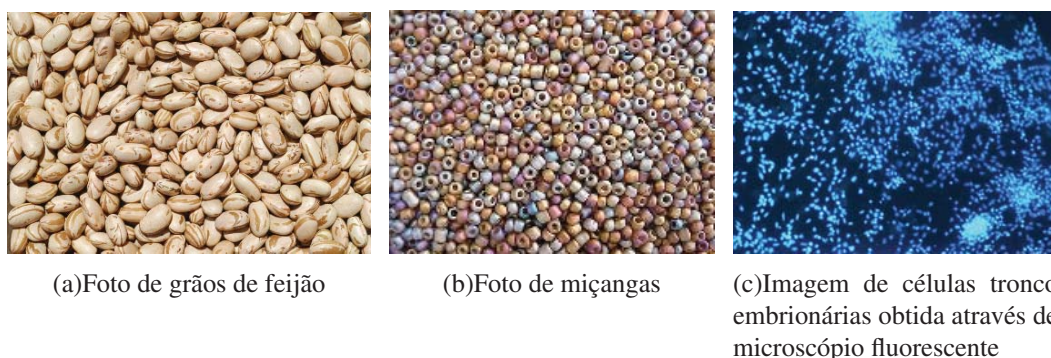


Figura 1.1: Exemplo de imagens não triviais de serem segmentadas.

Embora avanços na área de processamento de imagens e visão computacional vêm possibilitando a segmentação, reconhecimento e detecção automática de vários tipos de objetos, em se tratando de imagens onde os objetos são idênticos ou muito próximos em relação a cor ou textura e aparecem parcialmente sobrepostos ou fortemente agrupados, segmentá-los individualmente é um problema que métodos clássicos de segmentação, tais como watershed ou processos morfológicos básicos, podem não solucionar adequadamente.

Contar objetos em imagens é uma tarefa necessária em diversas aplicações. Contagem de pessoas nas estradas [12, 16], detecção e contagem de estruturas intracelulares [63], contagem de células [75] e de partículas biológicas em imagens de microscopia [14] são alguns exemplos. De modo geral, a contagem de objetos semelhantes é um procedimento fundamental para o entendimento de cenas onde vários objetos estão presentes. No entanto, contá-los manualmente em imagens impressas ou digitais é uma tarefa tediosa, demorada e que, devido ao cansaço

visual, exige um grande esforço humano. Além disso, estas dificuldades podem ser agravadas em situações onde as imagens não tenham um alto contraste, apresentem uma grande quantidade de objetos sobrepostos em uma única cena e os objetos de interesse sofram variações no seu tamanho e morfologia. No mais, o caráter subjetivo da contagem manual pode levar a uma grande variação nos resultados. Na prática, contar grandes quantidades de objetos manualmente leva a um alto desvio padrão, obtendo-se resultados de baixa qualidade. Portanto, faz-se necessário o desenvolvimento de um método para segmentação e contagem, capaz de lidar adequadamente com imagens onde os objetos aparecem parcialmente ou totalmente sobrepostos, ou ainda fortemente agrupados.

Uma imagem monocromática pode ser interpretada como uma superfície topológica onde a altitude de cada ponto é igual ao valor do pixel correspondente. Desta forma, objetos de interesse podem aparecer como picos (*sharp mountains*), domos (*smooth hills*) ou vales (*V- or U-shaped*). Os domos presentes nesta superfície são resultados de regiões da imagem que possuem, geralmente, um ponto central brilhante e esta luminância diminui gradualmente deste ponto em direção a borda do objeto. A Figura 1.2 mostra três imagens de objetos que aparecem como domo e a respectiva visualização 3D, representando a superfície. Nesta figura pode-se observar que cada objeto na imagem corresponde a um domo na superfície. Entretanto, devido a fatores como a presença de ruído, iluminação inadequada e até mesmo características intrínsecas dos objetos fotografados, um objeto na imagem pode apresentar mais de um ponto brilhante. Como consequência, o domo correspondente pode conter vários pontos de máximo local em seu topo, conforme ilustrado na Figura 1.2(b). Nesta figura, embora o domo posicionado a esquerda da superfície represente um único objeto, ele apresenta dois pontos de máximo local. Portanto, um domo fica caracterizado por um *cluster* de máximos locais (CLM).

Existe um grande número de objetos, nos mais variados tipos de imagens, tais como células em imagens de microscopia fluorescente [76], palmeiras de óleo em imagens IKONOS [42], microcalcificações em imagens de mamografia digital [41], filamentos de miosina no músculo em imagens de eletromicrografias [79] e, *spots* em imagens biológicas [73] e em imagens de 2-DE gel [81], dentre outros que são representados por domos, isto é por CML, quando a imagem é interpretada como uma superfície topológica. Além disso, objetos que possuam uma superfície côncava e suave, com uma fonte de iluminação pontual também são representados por esta estrutura. Logo, segmentar e contar estes objetos pode ser reduzido a tarefa de segmentar e contar os CML presentes na superfície que representa a imagem.

O presente trabalho visa desenvolver um novo método para segmentação e contagem de objetos em imagens digitais. Com o intuito de aplicá-lo a objetos diferentes, este método é parametrizável, tolerante à variações no tamanho e forma

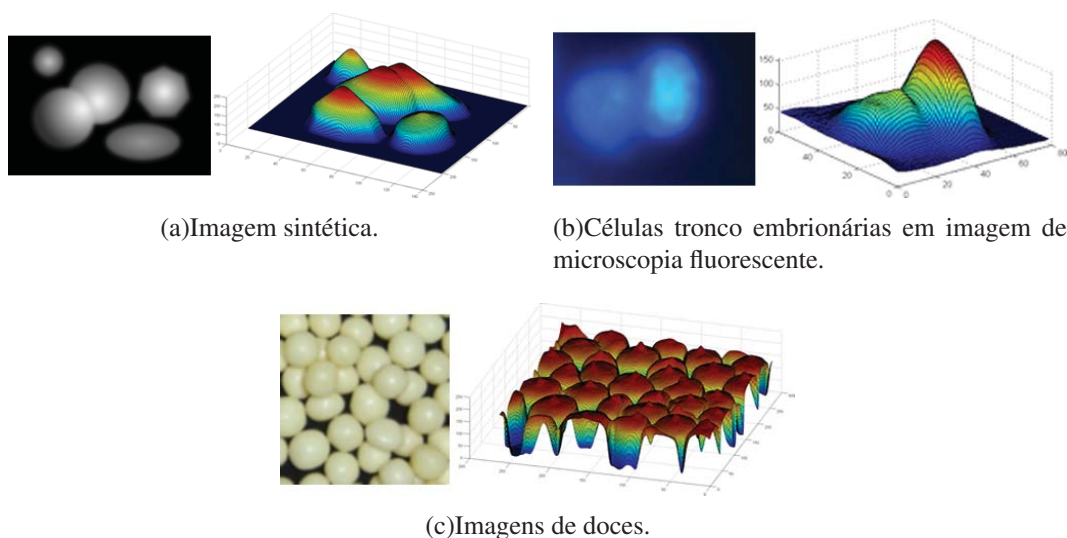


Figura 1.2: Exemplo de objetos que são representados por CML quando a imagem é interpretada como uma superfície topológica: a esquerda a imagem capturada e a direita a visualização 3D correspondente.

dos objetos e é capaz de lidar com imagens onde os objetos aparecem sobrepostos ou fortemente agrupados. Assim, com este método, é possível reduzir os esforços, eliminar a subjetividade dos resultados, simplificar e agilizar a tarefa de segmentação e contagem necessária em várias áreas de pesquisa.

Na metodologia apresentada nesta tese, a imagem é considerada como uma superfície topológica e os objetos de interesse são representados por CML. Através da informação de luminância é gerada uma representação da imagem baseada em grafo. O CML é caracterizado por um subgrafo e um algoritmo de mineração é utilizado para detectar os *clusters*. Por fim, de acordo com características da imagem, um algoritmo de clusterização pode ser incorporado ao processo para melhorar o resultado final. A contagem dos objetos é um resultado direto do algoritmo de mineração e de clusterização, quando este último é aplicado.

Resultados numéricos de testes executados em dois grupos de imagens (grupo 1 formado por fotos de objetos e grupo 2 formado por imagens de células tronco embrionárias obtidas através de um microscópio fluorescente) atestam a eficiência e qualidade do método proposto no que diz respeito a segmentação e também a contagem. Os resultados gerados para as imagens do primeiro grupo foram validados pela autora e os resultados para o segundo grupo de imagens foram validados pelos biólogos do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Por último, um estudo comparativo com o algoritmo de watershed por imersão proposto por Meyer [54] por foi realizado.

1.1 Contribuições

Como principais contribuições deste trabalho podemos citar:

- Desenvolvimento de um novo método para segmentação e contagem de *clusters* de máximos locais em uma imagem digital. Vantagens deste método incluem:
 1. É facilmente parametrizável e tolerante à variações no tamanho e forma dos objetos de um mesmo grupo de imagens. Logo, pode ser aplicado em vários tipos de imagens diferentes provenientes de objetos distintos.
 2. Embora não seja automático, o método proposto pode ser automatizado para grupos específicos de imagens. Ou seja, uma vez determinados os valores para os parâmetros de entrada (ε e λ) não é necessária a intervenção do usuário em etapa alguma do processo.
 3. As tarefas de segmentação e contagem não são dependentes. Isto é, é possível segmentar a imagem e não totalizar o número de objetos.
 4. É um método onde as fases são independentes. A etapa de partição do histograma, a representação da imagem baseada em grafo e os algoritmos de mineração e clusterização de grafos podem ser usados de modo independente.

Assim, também podemos citar como contribuição:

- Desenvolvimento de um algoritmo de mineração de grafos para detectar caminhos simples onde os nós estão em ordem crescente.
- Desenvolvimento de um algoritmo de clusterização de grafos hierárquico para mesclar os caminhos simples que estejam a uma distância menor que um limiar pré-definido.
- Desenvolvimento de uma ferramenta computacional para segmentação e contagem automática de células tronco embrionárias em imagens de microscopia fluorescente, a qual vem sendo utilizada com sucesso pelos biólogos do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) desde de 2009 e pode ser adquirida gratuitamente na Internet através do endereço <http://escc.inf.puc-rio.br/>.

1.2

Trabalhos Relacionados

Existe uma vasta literatura sobre segmentação de objetos, datando mais de 30 anos, com aplicações em diversas áreas além de visão computacional. Nesta seção, vamos discutir brevemente alguns dos trabalhos mais relevantes para nossa abordagem.

Métodos muito elementares como reconstrução de imagens em escala de cinza [71, 53], decomposição morfológica [66], e *thresholding* [67], são simples e rápidos de se implementar. Além disso, dada a variedade de funções que desempenham, podem ser facilmente combinados para atingir a segmentação completa da imagem [5]. Embora definidos, em sua maioria, para imagens binárias e em escala de cinza, podem ser estendidos para imagens coloridas. No entanto, estes métodos têm de ser ajustados manualmente para obter um bom desempenho para tipos específicos de objetos, tendo de ser reconstruído para objetos diferentes. São pouco robustos a variações na forma, tamanho e intensidade dos objetos bem como na iluminação da imagem. Além disso, não são aptos a segmentar objetos individuais em imagens onde eles aparecem sobrepostos ou fortemente agrupados. De modo geral, estes métodos são utilizados como um pré-processamento para uma análise mais complexa.

O método clássico de watershed [54] considera a imagem como um relevo e pode ser interpretado como um processo de inundação. A partir de pontos específicos, chamados de marcadores (*markers*), a água sobe gradualmente e o processo de alagamento continua até que toda a imagem esteja segmentada ou o nível de água chegue a uma dada altura. Pode ser facilmente implementado e é executado em tempo linear. No entanto, a transformada de watershed é sensível a ruídos e geralmente produz uma super segmentação como resultado. De modo geral, sua robustez está diretamente ligada à eficiência da etapa de pré-processamento, onde os pontos iniciais (*markers*) são detectados. Além disso, este método não é capaz de detectar os limites entre objetos que possuam baixo contraste, o que é inerente ao processo de imersão [10]. A fim de reduzir as deficiências do watershed, diversas técnicas de pré-processamento têm sido propostas [55, 64, 51]. Entretanto, a subsegmentação ainda é um problema que não foi tratado pela maioria dos pesquisadores.

Crescimento de regiões é um procedimento que agrupa pixels ou sub-regiões em regiões maiores de acordo com um critério pré-definido [40]. Seus pontos fortes são sua rápida execução, facilidade de implementação e flexibilidade. Entretanto, estes métodos necessitam que os pontos iniciais (sementes), a partir dos quais crescem as regiões, sejam previamente selecionados. Esta tarefa é geralmente feita pelo usuário. Além disso, estes métodos são sensíveis a ruídos na imagem e uma

vez que segmentam somente regiões homogêneas geralmente produzem uma super segmentação como resultado. Shih and Cheng [38] propuseram um método de crescimento de regiões para segmentar imagens coloridas onde os pontos iniciais são escolhidos automaticamente. No entanto, a falta de informação à respeito da localização e proximidade dos objetos, requer um método robusto e automático para a detecção das sementes.

Contornos ativos, também conhecidos como *snakes* ou modelos deformáveis [68, 58, 25], aparecem de várias maneiras diferentes na literatura. Uma revisão completa pode ser encontrada em [13, 15]. De modo geral, estes métodos não realizam uma segmentação completa da imagem. Na verdade, eles são destinados a isolar objetos de interesse, de modo direto, rotulando todos os pixels. Seu principal ponto fraco é a exigência de um ajuste delicado dos parâmetros que têm influência mais significativa. Normalmente não há regras para escolha dos valores e este ajuste é feito de modo manual através de tentativas e erros. Além disso, estes métodos devem ser previamente inicializados de modo similar a tarefa de encontrar os pontos iniciais para o algoritmo de watershed.

Métodos de *level sets* [8, 49, 50] surgiram como uma ferramenta poderosa para segmentar imagens. São muito bons em segmentar formas que mudam de topologia como, por exemplo, formas que se dividem em duas ou contenham buracos. No entanto, quando os objetos estão fortemente agrupados e são muito próximos em relação a cor ou textura, estes métodos não são capazes de segmentá-los individualmente. Além disso, o alto custo computacional pode ser um ponto fraco. Em particular, a avaliação da curvatura local requer o cálculo de muitas derivadas parciais - de primeira e segunda ordem - da função de imersão para cada ponto a cada iteração.

Redes neurais vêm sendo utilizadas com sucesso em processamento de imagens [7] e métodos baseados em redes neurais para a tarefa específica de segmentação e reconhecimento de padrões vêm sendo desenvolvidos [28, 60]. No entanto, estes métodos exigem um conhecimento prévio sobre a forma do objeto. Além disso, variações no tamanho, forma e textura dos objetos tornam os métodos baseados em aprendizagem muito sensíveis ao conjunto de treinamento, resultando em perda de robustez. Logo, como o propósito desta pesquisa é desenvolver um método para segmentação e contagem de CML que possa ser aplicado em diferentes grupos de imagens, um método baseado em redes neurais restringiria bastante os tipos de imagens além de exigir um ajuste/treinamento delicado para cada um deles.

Grafos são flexíveis e uma representação poderosa que vem sendo aplicada com sucesso em visão computacional, reconhecimento de padrões e áreas afins. Na área de reconhecimento de padrões, os grafos vêm se mostrando eficazes para

efeito de representação [61]. Como consequência, técnicas que utilizam grafos para representação e manipulação de dados têm sido amplamente investigadas na área de processamento e análise de imagens [17, 21, 18]. *Graph cuts* é uma abordagem popular utilizada em segmentação de imagens [46, 47]. De modo geral, a imagem é modelada como um grafo ponderado e não direcionado, o qual será particionado de acordo com um critério definido. Cada partição de nós do grafo representa um elemento da imagem. Estes métodos podem ser computacionalmente eficientes e produzem bons resultados para imagens exibindo um único objeto com textura regular. Por outro lado, em imagens onde os objetos estão agregados ou sobrepostos e são muito próximos em relação a cor e textura, esta técnica não é capaz de segmentá-los individualmente, separando apenas o aglomerado de objetos do fundo da imagem.

Como último trabalho relacionado podemos citar o método desenvolvido por Restif [63]. Em sua tese foi proposto um método de segmentação para imagens de microscopia fluorescente, projetado para lidar com núcleos e sondas cromossômicas. A etapa de segmentação de núcleos utiliza um modelo paramétrico do histograma da imagem. Baseado nas características morfológicas das sondas cromossômicas Restif desenvolveu um algoritmo de detecção de domos para segmentá-las. Em seu trabalho, um domo é definido como uma região de tamanho fixo construída ao redor de apenas um ponto de máximo. Uma máscara de tamanho 5x5 é centrada em cada ponto de máximo da imagem e a região é classificada como um domo ou ruído. Regiões com mais de dois pontos de máximos locais são consideradas ruído. Embora bastante eficiente e robusto este método não pode ser aplicado de forma direta para segmentar objetos com forma e tamanhos variados.

O presente trabalho propõe um método para segmentação e contagem de CML em imagens digitais. Ao contrário da definição apresentada por Restif [63], neste trabalho o objeto de interesse é caracterizado por um CML. Através da informação de lumiância uma representação da imagem baseada em grafo é construída e um algoritmo de mineração é utilizado para segmentar esta estrutura. Por fim, de acordo com características da imagem, um algoritmo de clusterização pode ser incorporado ao processo melhorando o resultado final e evitando super-segmentação, resultado que ocorre com frequência em métodos como o watershed [54] e crescimento por regiões [40, 38]. Em contraste com métodos baseados em redes neurais [28, 60], a metodologia apresentada não utiliza qualquer informação prévia à respeito da morfologia dos objetos e ao contrário dos métodos de crescimento por região e contornos ativos [13, 15], não necessita que pontos iniciais sejam previamente selecionados. Diferentemente de métodos muito elementares [71, 53, 66, 67, 5], *level sets* [8, 49, 50] e daqueles que utilizam a técnica de *graph-cuts* [46, 47], o método proposto é tolerante a variações no tamanho e forma dos objetos e é capaz de

segmentar individualmente objetos similares em relação a cor e textura, sobrepostos ou fortemente agrupados tais como aqueles mostrados na Figura 1.1. Além disso, em contraste com os contornos ativos que necessitam de um ajuste delicado dos parâmetros, o método proposto é facilmente parametrizado para lidar com grupos de imagens diferentes provenientes de objetos distintos.

1.3

Organização do Trabalho

O restante desta tese está organizado conforme descrito a seguir.

O Capítulo 2 apresenta o método proposto. Este capítulo inicia-se com uma visão geral do método, o qual é composto de seis passos: cinco obrigatórios (pré-processamento, partição do histograma, detecção das componentes conectadas e mineração do grafo) e um passo opcional (clusterização do grafo) específico para casos em que o objeto de interesse possui mais de um ponto brilhante. Em seguida as Seções 2.1, 2.2, 2.3, 2.5 e 2.6 descrevem cada um dos passos em detalhes.

O Capítulo 3 apresenta e discute os resultados experimentais. Para avaliar a qualidade e eficiência do método proposto, foram feitos testes em dois grupos distintos: o primeiro formado por fotos de objetos e o segundo formado por imagens de células tronco embrionárias obtidas através de um microscópio fluorescente. Os resultados para cada grupo são apresentados separadamente nas Seções 3.1 e 3.2, respectivamente. Este capítulo também apresenta um estudo comparativo com o algoritmo de watershed proposto por Meyer [54]. Com o intuito de contextualizar o problema de contagem de células tronco em imagens de microscopia, é apresentado na Seção 3.2 uma breve descrição do que são células tronco e sua importância, o porquê é necessário contá-las bem como alguns trabalhos relacionados.

Finalmente, o Capítulo 4 apresenta um pequeno resumo, as conclusões tiradas deste trabalho bem como algumas sugestões de trabalhos futuros, principalmente no que diz respeito à aplicação do método proposto em outros tipos de imagens.