

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
BACHARELADO EM SISTEMAS DE INFORMAÇÃO

Identificação de núcleos de células usando *Hough Circles*

Autor: Leonardo Candado Larsen

Autor: Pedro Henrique Abreu

Orientador: Profa. Dra. Valguima Victoria Viana Aguiar Odakura

Dourados-MS
25 de Abril de 2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
BACHARELADO EM SISTEMAS DE INFORMAÇÃO

Identificação de núcleos de células usando *Hough Circles*

Autor: Leonardo Candado Larsen

Autor: Pedro Henrique Abreu

Orientador: Profa. Dra. Valguima Victoria Viana Aguiar Odakura

Trabalho de conclusão de Curso de Graduação apresentado à Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologia da Universidade Federal da Grande Dourados, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Bacharel em Sistemas de Informação.

Dourados-MS
25 de Abril de 2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
BACHARELADO EM SISTEMAS DE INFORMAÇÃO

Identificação de núcleos de células usando *Hough Circles*

Trabalho de conclusão de Curso de Graduação apresentado à Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologia da Universidade Federal da Grande Dourados, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Bacharel em Sistemas de Informação.

Aprovado em 29 de abril de 2016.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Valguima Victoria Viana Aguiar Odakura

Prof. Me. Anderson Bessa da Costa

Prof. Me. Everton Castelão Tetila

Agradecimentos

A Deus, por estar sempre conosco, fornecendo amor, paz e sabedoria.

Aos nossos pais, avós e familiares que nos motivaram no desenvolvimento desse trabalho.

A professora Valguima Victoria Viana Aguiar Odakura pela orientação, amizade e paciência, necessários para a evolução desse trabalho.

Ao professor Anderson Bessa da Costa pela sua ajuda, orientação e paciência no desenvolvimento deste trabalho.

Aos amigos de curso que, durante anos, demonstraram união para superar todos os desafios.

Sumário

1	Introdução	1
2	Fundamentação Teórica	2
3	Desenvolvimento	3
3.1	Ferramentas	3
3.2	Banco de imagens	4
3.3	Plugin Segmenta Hough Circles	6
4	Experimentos	9
4.1	Classe Células Normais	10
4.2	Classe Células com Micronúcleo	11
4.3	Classe Célula com Ruidos	11
4.4	Classe Células com possíveis Micronúcleos	12
4.5	Classe Ruído	13
5	Conclusão	14

Identificação de núcleos de células usando *Hough Circles*

Leonardo Candado Larsen¹, Pedro Henrique Abreu¹,
Valguima Victoria Viana Aguiar Odakura¹

¹Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD)
Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologia

candadoleo@gmail.com, alohapedrohenrique@gmail.com

valguima.odakura@gmail.com

Abstract. *Genotoxic agents detection existent in aquatic environments have been performed using fish as a test organism due to its sensitivity to environmental adversities. The fish cells in contact with genotoxic agents go through changes in their cells, the creation of a micronucleus is the result of these changes. The detection of genotoxic agents is performed by analyzing the fish cells, usually manually, which makes the process exhausting and prone to failure. In this article, the Hough Circles technique is used to identify the nucleus present in fish cell images. The Hough Circles technique could satisfactorily identify the nuclei in fish cell images.*

Keywords: *Genotoxic Agents, Image Segmentation, Hough Circles.*

Resumo. *Detecção de agentes genotóxicos presentes no ambiente aquático tem sido realizada utilizando os peixes como organismo-teste, devido a sua sensibilidade às adversidades ambientais. As células dos peixes, em contato com agentes genotóxicos, sofrem modificações em suas células, apresentando micronúcleos. Desse modo, a detecção de agentes genotóxicos é realizada analisando as células de peixe, na maioria das vezes, de maneira manual, o que torna o processo cansativo e passível a falhas. Neste artigo, a técnica de Hough Circles é utilizada para a identificação do núcleo presente nas imagens de células de peixes. A técnica de Hough Circles em imagens de células de peixes conseguiu identificar satisfatoriamente os núcleos das mesmas.*

Palavras-chave: *Agentes Genotóxicos, Segmentação e Processamento de Imagens, Hough Circles.*

1. Introdução

Devido aos atuais problemas ambientais e a conscientização do ser humano sobre os poluentes que atuam no meio ambiente, têm sido realizados estudos para a detecção de agentes genotóxicos que possam estar presentes no ambiente aquático, pelo fato de servirem como repositórios para dejetos biológicos e tecnológicos do ser humano [Krishnaja, AP 1982]. Os peixes têm sido utilizados como organismo-teste para o estudo da toxicologia aquática, perante a sua sensibilidade às adversidades ambientais e por ser facilmente manipulado para a realização de testes citogenéticos [Nepomuceno, J. 2010].

Os resultados obtidos comprovam que o emprego do teste de micronúcleo realizados nos peixes são eficientes para detectar a presença dos agentes genotóxicos. O teste

de micronúcleo requer a que um profissional faça análise da lâmina, com o auxílio do microscópio, e realize a contagem e a identificação das células com micronúcleo

A contagem e classificação de células é um processo manual, passível de falhas, sendo necessário um longo período de tempo para realizá-las, o que acaba tornando essas atividades exaustivas para o profissional que as pratica.

Com o desenvolvimento dos computadores e das técnicas de visão computacional, tarefas que antes eram realizadas de forma manual e repetitiva, puderam ter uma redução de tempo com auxílio de programas que automatizaram o processo.

As aplicações que utilizam análise e processamento participam diretamente do campo da visão computacional, essa que possui diversos algoritmos para a extração de atributos de um conjunto de imagens. Este artigo analisa a aplicabilidade da técnica *Hough Circles* e a sua eficiência para identificação do núcleo da célula, no intuito de auxiliar o profissional a realizar a contagem das células. Juntamente com isso, serão apresentadas técnicas de segmentação e processamento de imagens utilizadas.

Este artigo está organizado da seguinte forma. Na Seção 2 é apresentada a técnica de *Hough Circles*. Na Seção 3 são apresentadas as ferramentas que foram utilizadas, as imagens coletadas e o *plugin* desenvolvido. Na Seção 4 são apresentados os experimentos aplicados e o resultados gerados utilizando o método apresentado. E na Seção 5 são apresentadas a análise referente aos resultados obtidos e as conclusões do trabalho.

2. Fundamentação Teórica

A técnica *Hough* foi desenvolvida por Paul Hough em 1962 [Hough, Paul. 1962]. Esta técnica detecta características analiticamente representáveis em imagens binarizadas, como linhas, círculos e elipses. É um método padrão para detecção de formas que são facilmente parametrizadas em imagens digitais, é preciso definir um mapeamento entre o espaço de imagem e o espaço de parâmetros.

Para detecção de circunferências com raio fixo, é preciso determinar quais os pontos de uma imagem pertencem a uma mesma circunferência de raio r . Com um conjunto de coordenadas (x, y) a técnica procura encontrar valores possíveis para os parâmetros (xc, yc) correspondentes ao pontos centrais da circunferência como ilustrado na Figura 1.

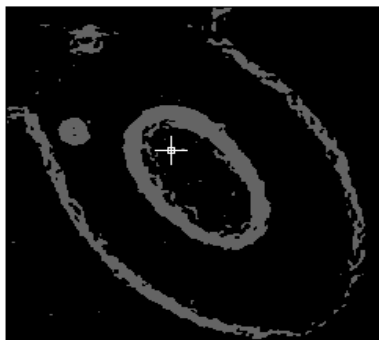


Figure 1. Exemplo de detecção de objetos circulares utilizando o *Hough Circles*.

O espaço de *Hough* pode ser visto com uma matriz, com a mesma dimensão da imagem digital, e as colunas e linhas representam respectivamente os valores de xc e yc .

Cada célula da matriz é iniciada com o valor zero para cada ponto (x, y) da imagem, incrementa-se no espaço de *Hough* todas as células (x_c, y_c) representando centros de circunferências de raio (r) , que passa por (x, y) . As células que contiverem os valores mais altos indicarão os centros mais prováveis da circunferência.

No Algoritmo 1 [Pistori, H. 2005] é apresentado como o espaço de *Hough* é criado a partir de uma determinada imagem.

Algoritmo 1 Criação do espaço de Hough

entrada: Matriz I , $n \times m$, representando a imagem binarizada.

saída: Matriz H , com o mesmo tamanho da imagem, representando o espaço de Hough.

```
1: para  $x = 0$  até  $n$  faça
2:   para  $y = 0$  até  $m$  faça
3:     se  $I(x, y) = 255$  então
4:       para  $\theta = 0$  até  $2 * \pi$  faça
5:          $x_c = x - r * \cos(\theta)$ 
6:          $y_c = y - r * \sin(\theta)$ 
7:          $H(x_c, y_c) = H(x_c, y_c) + 1$ 
8:       fim para
9:     fim se
10:   fim para
11: fim para
```

Algoritmo 1: Criação do Espaço de Hough [Pistori, H. 2005].

Os cálculos trigonométricos são realizados somente quando localiza o pixel que representa a borda de algum objeto, após o pré-processamento os pixels são representados com o valor 255 (cor branca). Em uma imagem podem existir diversos objetos circulares de raios distintos ou desconhecidos. Por conta disso, é utilizado uma matriz de três dimensões representadas pelas coordenadas (x, y) do pixel e o raio da circunferência em que o valor varia entre um intervalo de raio mínimo e máximo.

De acordo com o trabalho de [Pinheiro, A. et. al. 2012], o desempenho da técnica *Hough Circles* é excelente quando aplicado em imagens com regiões circulares bem definidas, não aglomeradas, e com poucas interferências do ambiente. Porém, em casos mais críticos onde as colônias se encontram aglomeradas, as mesmas podem ser identificadas como um único objeto, dificultando consideravelmente a contagem da técnica.

3. Desenvolvimento

A técnica de *Hough Circles* é utilizada para encontrar regiões circulares em imagens digitais através de pontos de raio máximo e raio mínimo, para a utilização do *Hough Circles* a imagem inicialmente deve passar por pré-processamentos. O objetivo deste artigo é utilizar a técnica de *Hough Circles* para detecção de núcleo de células de peixes. Para isso foram estudadas as técnicas de pré-processamento e valores de raios máximo e mínimo.

3.1. Ferramentas

Para o desenvolvimento deste artigo foram necessários o uso de alguns *softwares* para a realização dos testes, recortes e processamento das imagens. Abaixo são descritos os softwares utilizados e o objetivo de cada um.

- **ImageJ v1.48:** *Software* desenvolvido em *Java* pela *National Institute of Mental Health* [ImageJ], é utilizado para realizar análises e processamentos em imagens. O *ImageJ* suporta vários formatos de imagens como GIF, JPEG, BMP, PNG, FITS e tem suporte para plataformas com suporte a *Java* como *Linux* e *Windows*. Neste artigo, o *ImageJ* foi utilizado para o desenvolvimento do *plugin*, assim como para o uso da técnica de *Hough Circles*.
- **Plugin para Hough Circles:** A técnica foi implementada por Pistori e Costa [Pistori, H. 2005] como um *plugin* para o *ImageJ*. O *plugin* detecta e marca na imagem digital a quantidade de regiões circulares fornecidas pelo usuário, a partir de parâmetros pré-definidos como: raio mínimo, raio máximo, incremento do raio e quantidade de regiões circulares a serem encontradas.
- **MCN Recorte:** *Software* que utiliza a biblioteca do *ImageJ* para recortar uma imagem original em várias outras imagens. Neste artigo, foi utilizado para fazer os recortes das imagens que possuíam várias células e dividi-las em várias imagens com apenas uma célula.
- **Paint:** É um *software* nativo do Sistema Operacional *Microsoft Windows* [Microsoft], é utilizado para criação de desenhos, como também para edição de imagem. Neste artigo, foi utilizado para identificar tamanho do raio do núcleo das células.

Para o desenvolvimento do artigo foi desenvolvido o *plugin* Segmenta Hough Circles, o *plugin* foi desenvolvido na linguagem *java* com as bibliotecas do *ImageJ*. Ele é capaz de executar o pré-processamento na imagem de forma automatizada, conforme estabelecida no código fonte. Após a segmentação da imagem, o *plugin* executa a técnica de *Hough Circles* com parâmetros já definidos no código fonte. A seguir são apresentados os passos executados pelo *plugin*:

1. Seleciona imagem a ser processada.
2. Executa os pré-processamentos.
3. Aplica a técnica de *Hough Circles* com valores já definidos.
4. Apresenta os resultados.

3.2. Banco de imagens

Inicialmente foram coletadas, com o auxílio de um microscópio, um total de 35 imagens de células com tamanho 2592 x 1944 pixels, como no exemplo da Figura 2(a). O *software* *MCN Recorte*, baseado no analisador de partículas do *ImageJ*, analisa as imagens e detecta possíveis células, recortando-as. O *MCN Recorte* define uma região em torno da área de interesse e recorta esta região gerando novas imagens no tamanho 240x240 pixels, como mostrado na Figura 2(b).

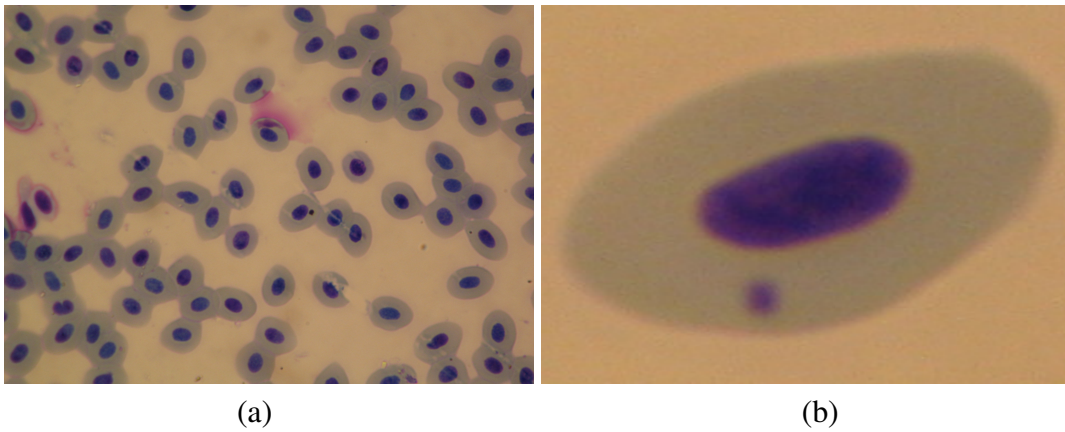


Figure 2. (Imagens utilizadas. (a) Imagem Coletadas no microscópio; (b) Imagem recortada pelo MCN.

As 35 imagens de entrada, após aplicação do *MCN Recorte*, resultaram em 1.531 imagens de células, com 240x240 pixels cada. Essas imagens foram classificadas visualmente em:

- Células com Micronúcleo: contendo 30 imagens, como ilustrado na Figura 3.

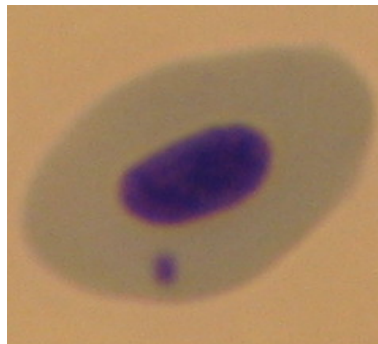


Figure 3. Célula com Micronúcleo.

- Células Normais (sem micronúcleo): contendo 1.305 imagens, a Figura 4 é um exemplo deste caso.

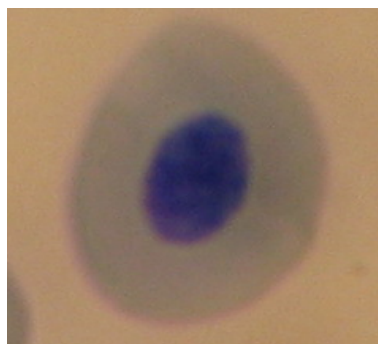


Figure 4. Célula Normal.

- Células com Ruídos: contendo 124 imagens, como mostra a Figura 5.

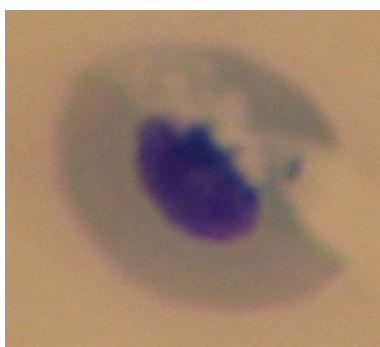


Figure 5. Célula com Ruídos.

- Células com possíveis Micronúcleos: contendo 43 imagens, na Figura 6 temos um exemplo desta classe.

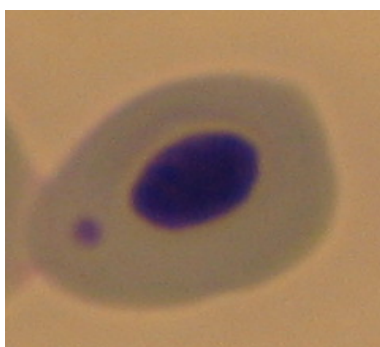


Figure 6. Células com possíveis Micronúcleos.

- Ruídos: contendo 29 imagens, como no caso da Figura 7.

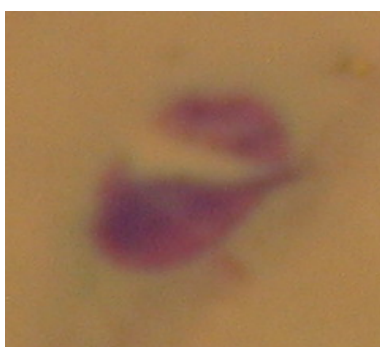


Figure 7. Ruído.

3.3. Plugin Segmenta Hough Circles

O *plugin* Segmenta Hough Circles, desenvolvido neste artigo, utiliza o *plugin* do *Hough Circles* para encontrar núcleos nas imagens das células recortadas. Como demais ferramentas do *ImageJ*, ele está configurado com parâmetros estáticos, com os valores: 75

pixels de raio máximo, 25 pixels de raio mínimo e 1 de valor de incremento de raio, sempre procurando apenas um único círculo (núcleo). Os parâmetros utilizados podem ser vistos na Figura 8.

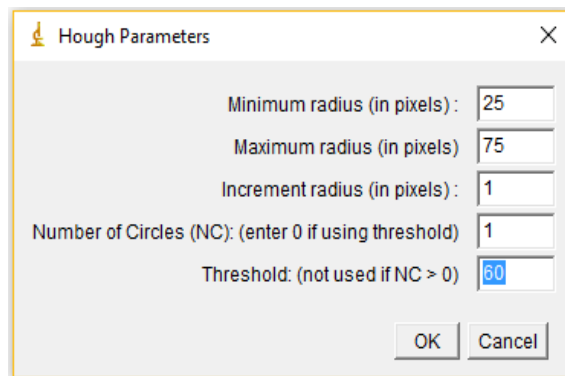
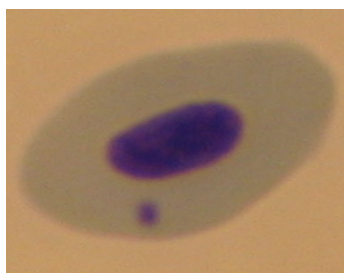


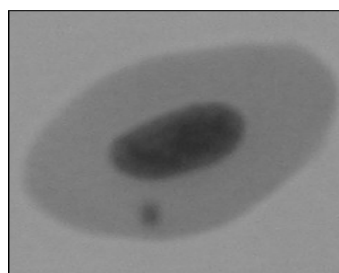
Figure 8. Parâmetros *Hough Circles*.

Após executar o *plugin* deve-se selecionar uma imagem de um diretório, para então ele realizar os seguintes pré processamentos:

- **Binarizar (8-bit):** A imagem é definida para a escala de cinza (8 bits), onde os valores das cores presentes na imagem variam de 0 à 255. As imagens antes e após a binarização podem ser visualizadas nas Figuras 9(a) e 9(b), respectivamente.



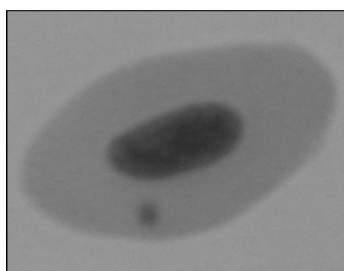
(a)



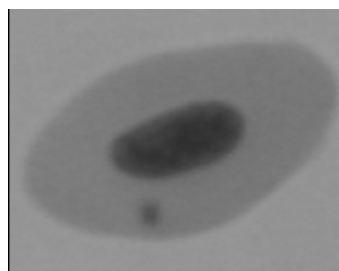
(b)

Figure 9. (a) Antes da binarização; (b) Após a binarização.

- **Suavizar (*Smooth*):** Deixa a imagem com mais nitidez. Cada pixel é substituído pela média de sua vizinhança, conforme ilustram as Figuras 10(a) e 10(b).



(a)



(b)

Figure 10. (a) Antes da suavização; (b) Após a suavização.

- **Encontrar Bordas (*Find Edges*):** Neste processamento são encontrados a descontinuidade dos objetos, ou seja, onde são as bordas das células. É atribuído o valor de 255 aos pixels que representam as bordas, na Figura 11(a) a imagem ainda não sofreu o processo de *Find Edges*, na Figura 11(b) temos a imagem resultante do processamento.

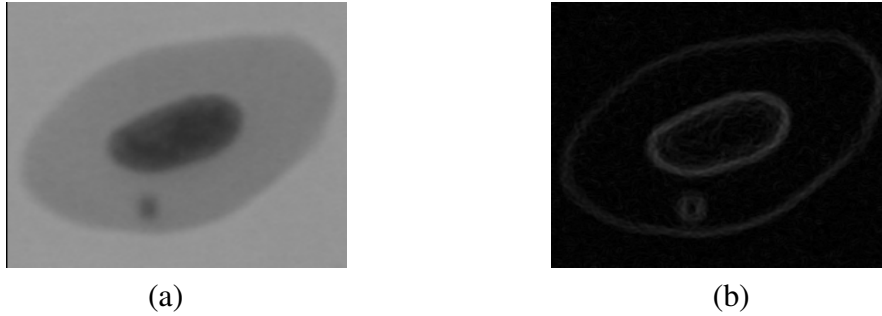


Figure 11. (a) Antes de encontrar as bordas; (b) Após encontrar bordas.

- **Limiarizar com valor padrão do sistema:** Encontra pontos de interesse, com esse processamento pode-se distinguir a célula ou micronúcleo do fundo da imagem, as Figuras 12(a) e 12(b) ilustram o processamento.

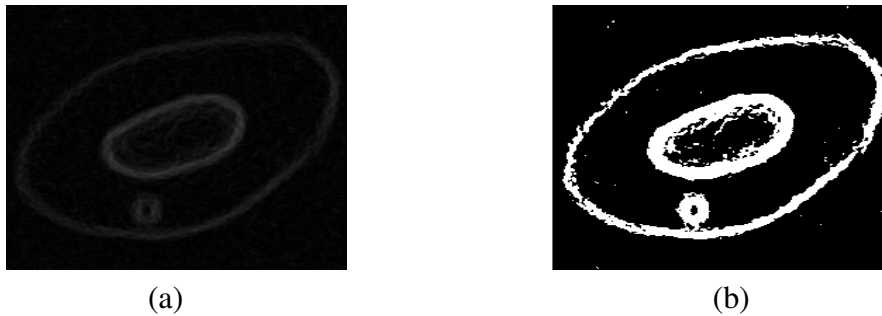


Figure 12. (a) Antes da limiarização; (b) Após limiarização.

- **Inverter Cores:** Inverte as cores da imagem, assim como mostrado nas Figuras 13(a) e 13(b) respectivamente. Os pixels definidos como brancos passam a ser pretos.



Figure 13. (a) Antes da inversão de cores; (b) Após inversão de cores.

- Aplica o *plugin Hough Circles*.

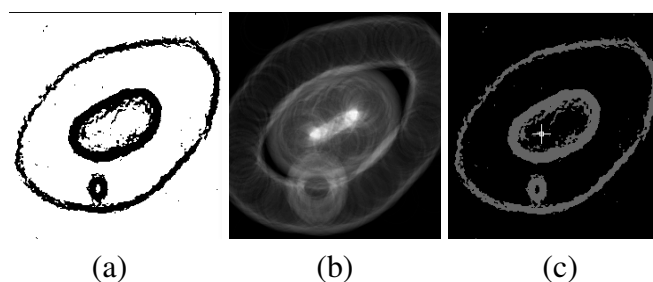


Figure 14. (a) Imagem pré processada, (b) Espaço de *Hough*, (c) Núcleo encontrado dentro da célula em destaque.

Após a execução do *plugin* obtemos como saída três imagens, ilustradas na Figura 14. A Figura 14(a) é a imagem original após os pré-processamentos, na Figura 14(b) são as regiões de interesses percorridas pelo algoritmo de *Hough Circles* e na Figura 14(c) é apresentado imagem gerada como resultado. O núcleo da célula é identificado de acordo com os parâmetros passados ao algoritmo e marcado com um sinal de + indicando o núcleo encontrado.

4. Experimentos

Para a realização dos testes foram utilizadas as imagens de células de peixe, totalizando 1.531 imagens de células. Nos experimentos procuramos identificar o núcleo das células nas imagens, e com isso definir a precisão da técnica de *Hough Circles* para realizar esta tarefa. A Figura 15 apresenta todos os passos do experimento, na Figura 15(a) temos a imagem coletada no microscópio, na Figura 15(b) temos um exemplo da imagem já recortada, na Figura 15(c) é ilustrado a imagem resultante dos pré-processamentos, a Figura 15(d) representa o espaço de *Hough* para esta imagem, e na Figura 15(e) temos o resultado, o núcleo da célula é encontrado.

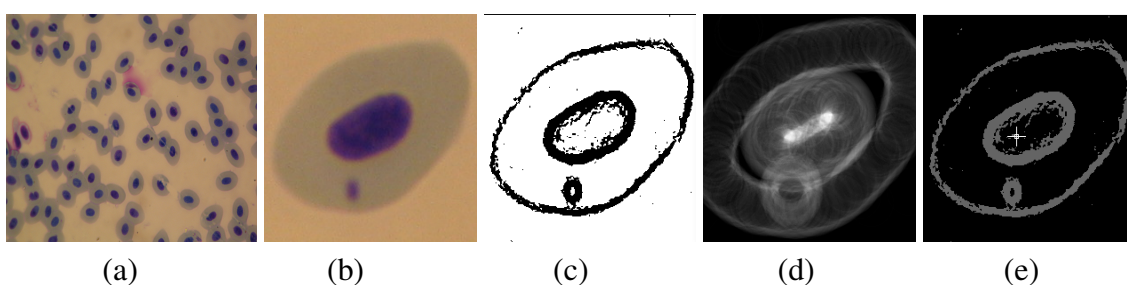


Figure 15. Processamento de imagens de células de peixe. (a) Imagem Original; (b) Imagem recortada pelo MCN; (c) Imagem pré processada; (d) Espaço de *Hough*; (e) Núcleo encontrado.

Neste artigo foram utilizadas as medidas de acurácia, sensibilidade, especificidade e precisão para a avaliação de desempenho. A acurácia representa a capacidade da técnica de *Hough Circles* em encontrar o núcleo, quanto maior o resultado, melhor será a eficiência do método. Ela é representada pela Equação 1.

$$\frac{VP + VN}{VP + VN + FP + FN} \quad (1)$$

Onde:

- VP: Verdadeiros Positivos.
- VN: Verdadeiros Negativos.
- FP: Falsos Positivos.
- FN: Falsos Negativos.

A sensibilidade representa a porcentagem de verdadeiros positivos detectado pelo sistema, neste caso também quanto maior o resultado melhor é a técnica. A sensibilidade é calculada segundo a Equação 2.

$$\frac{VP}{VP + FN} \quad (2)$$

A precisão representa a taxa confiabilidade de uma determinada classe, no caso verdadeiros positivos. Para estes casos valores próximos de um representam um melhor resultado. Ela é calculada segundo a Equação 3.

$$\frac{VP}{VP + FP} \quad (3)$$

A especificidade representa a taxa de erro na qual a técnica obteve ao encontrar o núcleo, ela é calculada segundo a Equação 4.

$$\frac{VN}{VN + FP} \quad (4)$$

4.1. Classe Células Normais

A classe Células Normais possui 1.305 imagens de células. Nesta classe as células não possuem micronúcleos e nem ruídos que possam ser confundidos com micronúcleos. O *plugin* Segmenta Hough Circles foi aplicado em todas as imagens dessa classe, resultando nos valores apresentados na Tabela 1, que representa a matriz de confusão para essa classe.

		Classe Verdadeira	
		Positivo	Negativo
Classe Predita	Positivo	1298	0
	Negativo	7	0

Table 1. Matriz de confusão para a classe Células Normais.

A partir da Tabela 1 é possível ver que 1298 imagens foram classificadas corretamente, representando verdadeiro positivo e 7 imagens foram classificadas como sem núcleo, sendo que na verdade elas tem núcleo, representando falso negativo.

A partir da matriz de confusão foram calculados as medidas acurácia, precisão, sensibilidade e especificidade, conforme ilustra a Tabela 2.

Acurácia	Precisão	Sensibilidade	Especificidade
0,9946	1	0,9946	0

Table 2. Medidas para avaliação de desempenho da classe Células Normais.

As medidas apresentadas na Tabela 2, mostram que o *plugin* teve uma precisão satisfatória, uma vez que não houve casos de falsos positivos. Não há casos em que a especificidade será diferente de zero, porque não há casos de verdadeiro negativo, e todas as imagens da classe possuem núcleos. A proporção de acerto (acurácia) foram significativas, com um valor alto de acerto. Quanto a sensibilidade, houve casos de falsos negativos, porém ainda com um resultado satisfatório.

4.2. Classe Células com Micronúcleo

A classe Célula com Micronúcleo possui 30 imagens de células, em que os micronúcleos foram identificados manualmente. O *plugin* Segmenta Hough Circles foi aplicado em todas as imagens dessa classe, resultando nos valores apresentados na Tabela 3, que representa a matriz de confusão para essa classe.

		Classe Verdadeira	
		Positivo	Negativo
Classe Predita	Positivo	30	0
	Negativo	0	0

Table 3. Matriz de confusão para a classe Células com Micronúcleo.

Como informado na Tabela 3, todas as imagens foram classificadas corretamente, ou seja, verdadeiro positivo. A partir da matriz de confusão foram calculados as medidas de acurácia, precisão, sensibilidade e especificidade, conforme ilustra a Tabela 4.

Acurácia	Precisão	Sensibilidade	Especificidade
1	1	1	0

Table 4. Medidas para avaliação de desempenho da classe Células com Micronúcleo.

Na Tabela 4 são apresentadas medidas calculadas, o *plugin* teve um precisão satisfatória, uma vez que não houve casos de falsos positivos. Não há casos em que a especificidade será diferente de zero, porque não há casos de verdadeiro negativo, todas as imagens da classe possuem núcleos. Quanto a sensibilidade e acurácia, não há casos de falsos negativo nem falsos positivos, assim a proporção de acertos foram altas, não apresentando erros de classificação.

4.3. Classe Célula com Ruídos

A classe Célula com ruídos possui 124 imagens. O *plugin* Segmenta Hough Circles foi aplicado em todas as imagens dessa classe, resultando nos valores apresentados na Tabela 5, que representa a matriz de confusão para essa classe.

		Classe Verdadeira	
		Positivo	Negativo
Classe Predita	Positivo	114	0
	Negativo	10	0

Table 5. Matriz de confusão para a classe Célula com Ruído.

Conforme a Tabela 5 temos que 114 imagens foram classificadas corretamente, representando verdadeiro positivo. Porém 10 imagens foram classificadas erroneamente, representando falso negativo. Após aplicar o *plugin* o resultado foi de que estas imagens não possuem núcleos, mas na verdade elas possuem um núcleo.

Após obter a matriz de confusão foram calculados as medidas acurácia, precisão, sensibilidade e especificidade, conforme ilustra a Tabela 6.

Acurácia	Precisão	Sensibilidade	Especificidade
0,9193	1	0,9193	0

Table 6. Medidas para avaliação de desempenho da classe Células com Ruídos.

A partir das medidas apresentadas na Tabela 6, vemos que o *plugin* teve uma taxa de acertos satisfatória, uma vez que o valor de acurácia foi próximo de 1. Quanto a precisão, como não há casos de falsos positivos seus resultados foram satisfatórios. Não há casos em que a especificidade será diferente de zero, porque não há casos de verdadeiro negativo, todas as imagens da classe possuem núcleos. Quanto a sensibilidade, o *plugin* erroneamente classificou algumas imagens em falso negativo.

4.4. Classe Células com possíveis Micronúcleos

A classe Célula com possíveis Micronúcleos possui 43 imagens, elas foram definidas nesta classe, porque não conseguimos visualmente definir, se os pontos na membrana são ruídos ou micronúcleos, mas não interferindo no resultado, uma vez que o *plugin* procura o núcleo da célula. O *plugin* Segmenta Hough Circles foi aplicado em todas as imagens dessa classe, resultando nos valores apresentados na Tabela 7, que representa a matriz de confusão dessa classe.

		Classe Verdadeira	
		Positivo	Negativo
Classe Predita	Positivo	43	0
	Negativo	0	0

Table 7. Matriz de confusão para a classe Células com possíveis Micronúcleos.

Conforme apresentado na Tabela 7 é possível ver que todas as 43 imagens foram classificadas corretamente, representando verdadeiro positivo. Com os resultados da matriz de confusão foram calculados as medidas acurácia, precisão, sensibilidade e especificidade, conforme ilustra a Tabela 8.

Acurácia	Precisão	Sensibilidade	Especificidade
1	1	1	0

Table 8. Medidas para avaliação de desempenho da classe Células com possíveis Micronúcleos

As medidas apresentadas na Tabela 8, mostram que o *plugin* teve uma precisão, acurácia e sensibilidade satisfatória uma vez que todas as imagens foram classificadas como verdadeiras positivas. Como não há casos de verdadeiro negativo, a especificidade foi igual a zero.

4.5. Classe Ruído

A classe Ruído possui 29 imagens, nas quais o resultado do recorte gerou imagens com ruídos e sem a presença de células. Com *plugin* Segmenta Hough Circles aplicado em todas as imagens dessa classe, foram obtidos os seguintes resultados apresentados na Tabela 9, que representa a matriz de confusão para essa classe.

		Classe Verdadeira	
		Positivo	Negativo
Classe Predita	Positivo	0	29
	Negativo	0	0

Table 9. Matriz de confusão para a classe Ruído.

Com base na Tabela 9 temos que todas as 29 imagens foram classificadas incorretamente, representando falso positivo. O *plugin* definiu que as imagens possuem núcleos quando na verdade os pontos identificados são ruídos.

A partir dos resultados das matriz de confusão foram calculados as medidas acurácia, precisão, sensibilidade e especificidade desta classe, conforme ilustra a Tabela 10.

Acurácia	Precisão	Sensibilidade	Especificidade
0	0	0	0

Table 10. Medidas para avaliação de desempenho da classe Ruído.

As medidas apresentadas na Tabela 10, apresenta um erro na técnica de *Hough Circles*, uma vez que ela não consegue distinguir os ruídos de núcleos de célula. Como todas as imagens foram classificadas como falso positivos os valores de precisão, acurácia, sensibilidade e especificidade foram iguais a zero.

Na Tabela 11 são apresentados os resultados de acurácia, precisão, especificidade e sensibilidade para todas as classes a fim de comparar os resultados obtidos.

<i>Hough Circles</i>	Sensibilidade	Especificidade	Acurácia	Precisão
Célula Normal	0,9946	0	0,9946	1
Célula com Micronúcleo	1	0	1	1
Célula com Ruído	0,9193	0	0,9193	1
Célula com possíveis Micronúcleos	1	0	1	1
Classe Ruído	0	0	0	0

Table 11. Medidas para avaliação de desempenho da classes.

O desempenho do *plugin* se mostrou eficiente para a realização do pré processamento e aplicação da técnica de *Hough Circles*, uma vez que não obteve falhas para a conclusão das etapas do processamento. O resultados dos experimentos foram satisfatórios, e os valores obtidos para as avaliações de desempenho de acurácia, sensibilidade, especificidade e precisão foram convincentes.

O desempenho da técnica de *Hough Circles* é excelente quando aplicados em imagens com regiões circulares bem definidas e com níveis de ruídos baixos ou inexistentes. Porém na classe Ruído foi possível identificar erros na técnica, uma vez que esta classe só contém imagens com ruídos, sem células. Nesta classe a técnica de *Hough Circles* apresentou casos de falsos positivos, ou seja, a técnica aplicava o processamento criando bordas em objetos erroneamente, obtendo um espaço de *Hough* que era processado com regiões circulares erradas, ruídos foram definidos como células equivocadamente. Melhorias devem ser trabalhadas nas imagens no intuito de diminuir a influência de ruídos.

5. Conclusão

Neste artigo a técnica de *Hough Circles* foi utilizada com sucesso para identificar os núcleos de células presentes em uma imagem. Através dos experimentos apresentados neste trabalho, podemos concluir que o método proposto para identificação de núcleos de células apresentou resultado satisfatórios. Alguns problemas quanto a qualidade da imagem e ruídos apresentados, interferiram significativamente no resultado dos experimentos, uma vez que o *plugin* definiu imagens com ruídos como núcleos erroneamente.

Para solução deste problema, é necessário estudar novos meios para a captura destas imagens, como microscópios de melhor qualidade. Outras técnicas de pré-processamento para segmentação de imagens, assim como técnicas para remoção de ruídos devem ser estudadas posteriormente para que em trabalhos futuros, utilizemos a técnica de *Hough Circles* de forma total ou de forma híbrida com outras técnicas para a detecção de núcleos e micronúcleos.

References

- Hough, Paul VC. (1962). Method and means for recognizing complex patterns.
- Krishnaja, AP and Rege, MS Induction of chromosomal aberrations in fish *Boleophthalmus dussumieri* after exposure in vivo to mitomycin C and heavy metals mercury, selenium and chromium *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 1982
- Microsoft, Open Paint. <http://windows.microsoft.com/pt-br/windows-vista/open-paint>. Acesso em Abril de 2016.
- National Institute of Mental Health. ImageJ - Image Processing and Analysis in Java. <https://imagej.nih.gov/ij/features.html>. Acesso em Abril de 2016.
- Nepomuceno, Júlio César and Silva, AC Avaliação da frequência de micronúcleos em eritrócitos periféricos de mandi-amarelo (*Pimelodus maculatus*) do rio Paranaíba *Perquirere.[Internet]*, vol. 7 p.167-19, 2010
- Pinheiro, Arthur Melo and de Souza, Kathiani Elisa and Odakura, Valguima Victoria Viana Aguiar and Amorim, Willian Paraguassu. (2012). Contagem Automática de Colônias usando Hough Circles.
- Pistori, Hemerson and Pistori, Jeferson and Costa, Eduardo Rocha. (2005). Hough-Circles: Um Módulo de Detecção de Circunferências para o ImageJ.