

Uso de filtros passa-baixas e passa-altas para estudo de imagens de microscopia biológica

Eloísa Maria Amador Souza, Giovana Martins Coelho, Maria Clara Macêdo Lelis e Rafaela Beatriz Silva Luz

Resumo

O presente estudo explora a aplicação de filtros lineares no fluxo de pré-processamento de imagens de microscopia biológica. Essas ferramentas matemáticas realizam convoluções 2D nas matrizes das imagens. Os filtros passa-baixa, como o gaussiano e o de média, suavizam a imagem e reduzem o ruído, sem comprometer as estruturas de interesse; por sua vez, os passa-alta, como o unsharp e o de Sobel, realçam o aspecto geral preservado pelos passa-baixas que os antecedem. A implementação desse processo em Python permitiu uma aplicação em imagens que demonstrou sua eficácia na análise quantitativa de células. A simplicidade de seus fundamentos aliada à sua relevância prática fazem dos filtros lineares recursos interessantes para a análise de imagens biológicas em softwares de segmentação de células e núcleos.

Keywords: Filtro Gaussiano; Microscopia Celular; Segmentação de Células; Tratamento de Imagem; Álgebra Linear computacional.

1 Introdução

Imagens são fundamentais em diversas áreas da ciência e sua obtenção pode ser um processo complexo. Em muitos casos, a imagem sem tratamento não é adequada para o trabalho, apresentando menos detalhes do que o necessário para uma análise aprofundada, ou, ao contrário, excesso de detalhes que dificultam a visualização de traços importantes. Uma solução para esses entraves é a aplicação de filtros, operações para extrair informações relevantes da imagem (Junior).

Entre eles, filtros passa-baixa, como o da média e o gaussiano, suavizam os traços da imagem ao atenuar as frequências altas, que estão associadas aos detalhes (Figura 1). O gaussiano causa um desfoque menor que o médio, pois aquele filtra cada ponto usando uma média ponderada de pontos que o rodeiam, mas com maior peso para pontos mais próximos.

Vahadane and Sethi (2013) consideram o filtro gaussiano um estágio essencial de pré-tratamento de imagens histológicas para segmentação, pois núcleos borrados são identificados se houver essa implementação prévia. Já Cuadros et al. (2020) aplicou o filtro integrado ao valor de pixel apropriado do modelo de cor CIELAB para identificação de centroides de núcleos celulares.

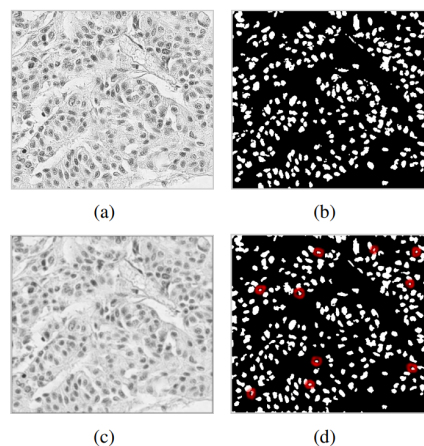


Figura 1: Células vistas em microscópio com e sem aplicação de filtro gaussiano (a e c). Ao lado (b e d), os núcleos identificados após tratamento completo da imagem em cada caso e, contornados de vermelho, os núcleos identificados apenas com pré-tratamento por suavização gaussiana. Fonte da imagem: Vahadane and Sethi (2013)

Por sua vez, filtros passa-alta são úteis para obter imagens mais nítidas e definidas e, quando aplicados após filtragem passa-baixa, seu realce não é prejudicado pelos ruídos já retirados.

Entre esses, o filtro de Sobel detecta bordas a partir do cálculo do gradiente de cada ponto em relação a determinadas direções (UFPR (n.d.)).

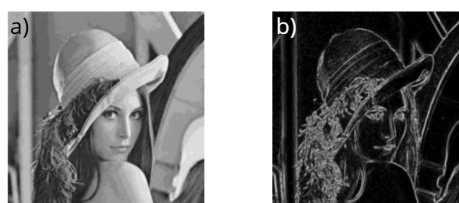


Figura 2: Aplicação do Filtro Sobel. Em a) observa-se a imagem original e em b) o resultado com as bordas da imagem destacadas após a aplicação do filtro. Fonte da imagem: <https://doi.org/10.20906/sbai.v1i1.2682>

Outro passa-alta conhecido é o filtro unsharp, que melhora a nitidez da imagem (de Araújo Pessoa).

Isso ocorre porque o filtro aumenta o contraste entre os pontos onde identifica uma diferença de intensidade entre esses e, com isso, torna as bordas mais nítidas e definidas (Figura 3) Sua capacidade de recuperação de detalhes e realce de texturas, torna o unsharp útil em análise de imagens biológicas.



Figura 3: Aplicação do Filtro Unsharp. Em a) observa-se a imagem original e em b) o resultado após a aplicação do filtro Unsharp. Fonte da imagem: <https://repositorio.unicamp.br/Busca/Download?codigoArquivo=466453>

Por exemplo, AS and Gopalan (2022) identifica um algoritmo que utiliza o filtro de Sobel de 8 direções como um bom detector de bordas de tumores cerebrais em imagens de ressonância magnética em comparação com similares. AS and Gopalan (2022) também cita o uso de uma máscara formada por filtragem unsharp com suavização gaussiana como etapa de pré-processamento das imagens médicas útil para algoritmos de detecção de bordas. Já Bengtsson, Wahlby and Lindblad (2004) utiliza o filtro de Sobel como parte de um processo de segmentação por watershed de núcleos celulares em tecidos.

Tendo em vista as vantagens de utilizar filtros passa-baixa seguidos por passa-alta no tratamento de imagens biológicas, o presente trabalho se propõe a explicar o funcionamento dos filtros elencados acima, assim como aplicá-los em imagens de ciências da vida obtidas por microscopia, buscando redução de ruídos e aumento da nitidez das bordas, auxiliando na identificação de unidades como células e núcleos.

2 Recursos matemáticos

2.1 Filtros lineares

Filtros lineares são obtidos de uma convolução entre a matriz de uma imagem e uma janela móvel (Centeno). Assim, o resultado de um filtro linear pode ser escrito na forma de uma convolução de duas dimensões entre a função $I(x,y)$ e a matriz $p(i,j)$, dada por:

$$G(x,y) = \sum \sum [p(i,j) \times I(x+i,y+j)]$$

Em que: i,j é a vizinhança do valor x , por exemplo: $i = 1, 0, +1$ descreve o pixel e seus dois vizinhos na linha; $p(i,j)$ é o filtro; $G(x,y)$ é a imagem filtrada (Centeno).

Para sua filtragem, a imagem é armazenada na forma de uma matriz de pixels, que são a menor unidade de uma imagem digital, representados por um valor representativo de sua cor única. No caso das imagens coloridas, utiliza-se a escala RGB, que indica a participação de cada cor primária (vermelho, verde e azul) em um pixel. Já para imagens em tons de cinza, os valores do pixel indicam a intensidade de luz.

Em síntese, a convolução acontece a partir do deslocamento da função filtro p ao longo do domínio de I e, para cada posição, pela soma do produto entre as duas funções (Centeno). Isso permite que os elementos do filtro sejam representados em forma matricial (Figura 2):

Assim, um resultado é calculado para cada posição da janela móvel dentro da imagem e o resultado é sempre atribuído ao pixel central da imagem filtrada (Junior; Centeno). O novo valor é calculado somando

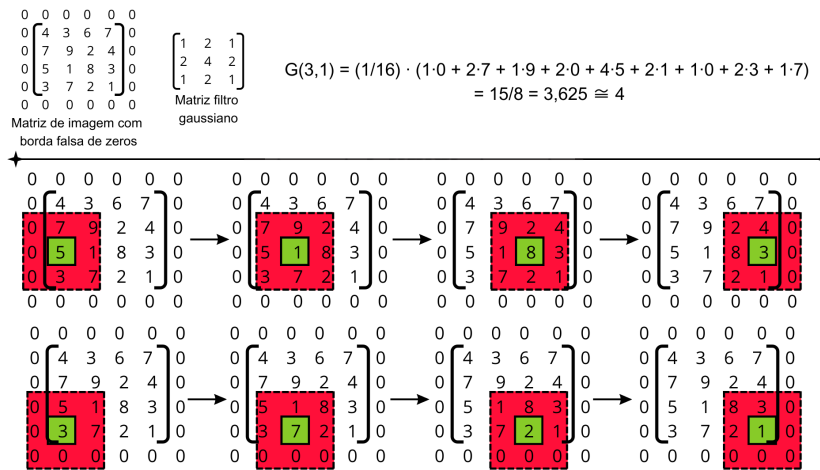


Figura 4: Ilustração de passos de uma convolução 2D por filtro gaussiano aproximado, o filtro está passando pela terceira e quarta linhas com o elemento central no filtro sendo o que será alterado por cada passagem. O exemplo de operação mostra como ficaria o valor do elemento $G(3, 1)$. Imagem baseada em Centeno.

o produto dos pixels localizados na janela móvel pelos respectivos pesos, atribuídos por essa janela (Junior; Centeno). No caso em que o pixel está na borda (sem vizinhos suficientes para um ou mais lados), é possível replicar a borda, adicionar zeros ou usar uma extensão espelhada para seguir com os cálculos (Junior).

2.2 Frequências: filtros passa-baixas e passa-altas

A função de uma imagem pode ser descrita como combinação de várias funções senoidais de frequências distintas, em que as de menor frequência dão a forma geral da função e as de maior frequência representam os detalhes (Figura 5). No caso de um filtro *passa-baixas*, as maiores frequências são filtradas, permitindo a passagem das menores e a formação de uma imagem desfocada, mas com os traços gerais da original. Já seu oposto, um filtro *passa-altas* enfoca em detalhes, gerando uma imagem realçada.

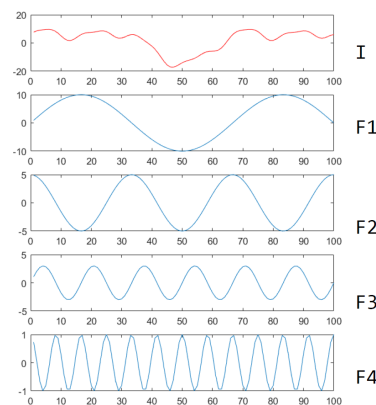


Figura 5: Uma imagem I pode ser descrita como combinação de várias funções senoidais F de frequências distintas (Centeno). As senoidais estão em ordem crescente de frequência.

2.3 Filtro da média

O filtro da média é um passa-baixa cujos elementos valem 1, ou seja, ele faz uma média simples dos pixels sobrepostos pelo filtro para cada pixel a ser filtrado de Oliveira and de Magalhães (2005). Assim,

o único parâmetro variável é o tamanho do filtro, sendo que seu aumento é proporcional ao do desfoque imposto de Oliveira and de Magalhães (2005).

2.4 Filtro gaussiano

O filtro gaussiano é um filtro passa-baixa, causando uma suavização da imagem e eliminação de ruídos de Oliveira and de Magalhães (2005) inferior à resultante do filtro da média. Ele possui alta aplicabilidade no pré-processamento de imagens de microscopia biológica, auxiliando na identificação de unidades como fungos, células e núcleos celulares. O desfoque pode ser útil em imagens com primeiro plano ruidoso ou próximo do ruído de fundo (Broad). Como a distribuição normal é uma função simétrica, a suavização ocorre igualmente em todas as direções de Oliveira and de Magalhães (2005). Assim, a aplicabilidade científica deste filtro se deve especialmente à eliminação de ruídos e variações indesejadas, a qual permite, por exemplo, a detecção de padrões de interesse Jesus and Costa Jr (2015).

Esta operação se baseia em uma função gaussiana (Figura 4), com gráfico em forma de sino em que os valores são distribuídos em torno de uma média, sendo que quanto mais próximo um valor X está da média, maior será o seu peso Jesus and Costa Jr (2015). Esse tipo de filtro 2D recebe como parâmetro as dimensões da janela (X e Y). O segundo e último parâmetro da função é o desvio-padrão (σ), que é responsável por delimitar a extensão de aplicação do filtro (tamanho da matriz filtro). Caso σ seja um valor baixo, a suavização será menor; caso seja alto, a suavização será maior.

Dessa maneira, esta convolução faz com que o valor convoluído de um pixel seja uma média ponderada do seu valor com os valores ao redor dele em que, quanto maior a proximidade do pixel, maior é o peso Jesus and Costa Jr (2015). É justamente devido a esse processo que a imagem será suavizada.

A fórmula matemática e um exemplo gráfico de função que determina esse tipo de filtro são Jesus and Costa Jr (2015):

$$G(x, y) = \frac{1}{2\pi\sigma^2} \cdot e^{\left(-\frac{x^2+y^2}{2\sigma^2}\right)}$$

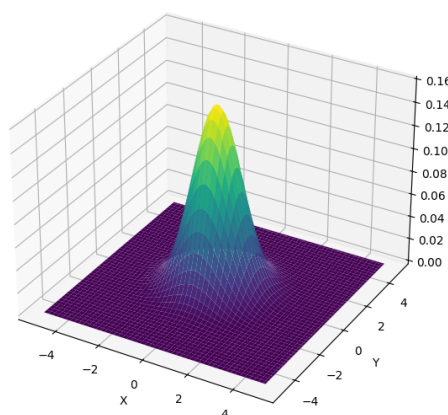


Figura 6: Exemplo de função gaussiana 2D, no filtro, o pico é sobreposto ao pixel central, com a diminuição da altura (que no filtro será o peso) dependente da distância desse pixel. Autoria própria

2.5 Filtro de Sobel

Esse filtro aplica o gradiente espacial 2D na imagem e, assim, detecta as regiões de alta frequência espacial que correspondem a bordas [Fisher et al. \(c2003\)](#). Isso acontece a partir da aplicação de matrizes de convolução que respondem ao máximo às bordas que correm direcionalmente em relação à grade de pixels. Abaixo, respectivamente, kernels de realce vertical e horizontal para filtro de Sobel de duas direções:

$$\begin{bmatrix} -1 & 0 & +1 \\ -2 & 0 & +2 \\ -1 & 0 & +1 \end{bmatrix} \quad \begin{bmatrix} +1 & +2 & +1 \\ 0 & 0 & 0 \\ -1 & -2 & -1 \end{bmatrix}$$

Os kernels podem ser aplicados separadamente à imagem, produzindo medições separadas do componente de gradiente em cada orientação, G_x e G_y , que podem ser combinados para encontrar a magnitude absoluta do gradiente $|G|$ em cada ponto e sua orientação (ângulo de orientação da borda θ).

$$|G| = \sqrt{G_x^2 + G_y^2} \quad \theta = \arctan\left(\frac{G_y}{G_x}\right)$$

2.6 Filtro Unsharp

O filtro unsharp realça detalhes (elementos de alta frequência) em imagens, sendo sensível a ruídos [Fisher et al. \(c2003\)](#). Para iniciar a operação, uma versão suavizada da imagem, $f_{suavizada}(x, y)$, é subtraída pela imagem original $f(x, y)$, o que resulta em uma imagem de alta frequência $g(x, y)$ [Fisher et al. \(c2003\)](#).

$$g(x, y) = f(x, y) - f_{suavizada}(x, y)$$

A nova figura formada é, então, somada à figura original, o que irá formar a imagem final com detalhes realçados $f_{realcada}(x, y)$ [Fisher et al. \(c2003\)](#). Nessa soma, $g(x, y)$ é multiplicada por k , um fator de amplificação responsável por ditar o quanto o contraste da imagem final será intensificado, sendo valores razoáveis para k entre 0,2 e 0,7.

$$f_{realcada}(x, y) = f(x, y) + k \cdot g(x, y)$$

3 Aplicação

Os filtros gaussiano, de média, de Sobel e Unsharp foram implementados em um Jupyter Notebook com linguagem Python e aplicados a algumas imagens de células obtidas por microscopia. Inicialmente, as imagens em Mapa de Pixels Portátil (formato PPM) foram traduzidas em array do Numpy. Posteriormente, utilizou-se a função `convolve2D` do `scipy.signal` para implementar os kernels dos filtros. Ao final, as imagens filtradas foram comparadas com as originais, especialmente após a passagem consecutiva por passa-baixas e passa-altas.

4 Resultados e Discussões

Após a implementação e aplicação dos filtros passa-baixa nas imagens utilizadas para o projeto, foi possível observar o efeito de suavização de contornos e diminuição de ruídos nas imagens escolhidas ao impedir a passagem de altas frequências. Dessa forma, foi possível perceber a aplicabilidade do filtro

gaussiano que suaviza a imagem, mas mantém seus elementos gerais, sem promover um desfoque tão grande quanto o do filtro médio. Isso pode ser observado ao comparar imagens com e sem filtros passa-baixa (Figura 7).



Figura 7: Células de tecido epitelial vistas em microscópio, observa-se a imagem original e com a aplicação do filtro da média e gaussiano, respectivamente. Fonte da imagem original: <https://abrir.link/DRhqU>.

Além disso, também fica perceptível a aplicabilidade do filtro gaussiano na etapa de pré-processamento. Isso pode ser observado ao comparar o resultado após a aplicação dos filtros Sobel e Unsharp em imagens com e sem filtragem gaussiana do ruído (Figuras 8 e 9).

Com a aplicação do filtro Sobel observa-se o destaque que as bordas adquirem, tornando-se mais definidas (Figura 8). Tal definição é útil para estudos em que a análise de cada unidade, como células e núcleos é essencial. Através da Figura 8 também é possível comparar o resultado do filtro Sobel sem a suavização prévia, com a imagem que passou pela remoção de ruídos. Essa comparação ressalta a importância de utilizar um filtro passa-baixa, como o gaussiano, responsável por eliminar os ruídos, para em seguida aplicar filtros que aumentem a definição. Assim, o uso desses em conjunto torna a imagem apropriada para uma boa análise de segmentação.

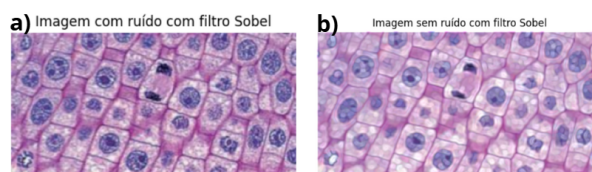


Figura 8: Células de tecido epitelial vistas em microscópio com aplicação do filtro Sobel. Em a) a imagem possui ruídos, em b) a imagem foi previamente filtrada por filtro gaussiano para remoção de ruídos, ambas com o filtro Sobel.

O presente trabalho também aplicou o filtro unsharp. A partir da Figura 9 é possível comparar o desempenho do filtro com e sem suavização gaussiana prévia, observando o destaque do unsharp, sensível a ruídos, para os detalhes da imagem. Tal característica mostra como esse filtro pode auxiliar em estudos que utilizam da análise de imagens e segmentação de unidades, como microscopia biológica, mas apresenta baixa de desempenho no realce exclusivo de bordas quando há presença ruídos.

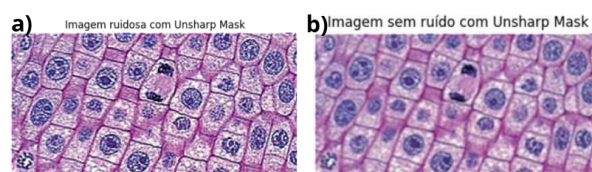


Figura 9: Células de tecido epitelial vistas em microscópio com aplicação do filtro unsharp. Em a), observa-se a imagem com ruído e com o filtro unsharp. Em b), observa-se aplicação do filtro unsharp em imagem previamente tratada com filtro gaussiano.

5 Considerações Finais

Este trabalho possibilitou compreender o funcionamento matemático e computacional de filtros passa-baixa, como o da média e o gaussiano, e de filtros passa-alta, como o Sobel e o unsharp. Além disso, aplicamos esses filtros em imagens de microscopia biológica, demonstrando sua eficiência e utilidade no processamento de imagens, ao proporcionar resultados que possivelmente facilitam a interpretação e análise de estruturas celulares.

O filtro da média destacou-se por seu formato mais simples. No entanto, esse filtro pode suavizar excessivamente as figuras, resultando na perda de detalhes importantes.

Já o filtro gaussiano também mostrou-se de aplicação e matemática relativamente simples, utilizando conceitos de funções gaussianas para sua convolução. Durante o estudo, reproduzimos com sucesso a funcionalidade do filtro, observando como ele reduz ruídos e destaca características gerais importantes, o que pode facilitar a análise de estruturas biológicas. Sua versatilidade e eficiência fazem do filtro gaussiano uma etapa importante no pré-processamento de imagens para segmentação de unidades biológicas em microscopia celular.

O filtro Sobel destacou-se por sua utilidade na detecção de bordas em imagens e pela maior resistência a ruídos em comparação com outros filtros similares. Sua implementação, de baixa complexidade computacional, permitiu melhorar a nitidez de áreas de alto gradiente (contornos), possivelmente auxiliando na identificação de elementos biológicos, como contornos celulares, núcleos e organelas.

Por fim, o filtro unsharp, utilizado para realçar detalhes em imagens, é obtido pela subtração de uma versão suavizada da imagem original. O resultado é uma imagem de alta frequência, que, ao ser somada novamente à original, destaca detalhes importantes. Devido à sua sensibilidade a ruídos, o pré-processamento é essencial antes de aplicar o filtro unsharp. Essa ferramenta amplamente empregada na edição de imagens pode ser particularmente útil na identificação de padrões, bordas e detalhes em imagens biológicas.

O código completo e explicado do projeto pode ser acessado no GitHub da equipe: <https://abrir.link/mCnTd>.

6 Contribuições das autoras

Eloísa Maria Amador Souza: introdução, README do GitHub, edição em \LaTeX , resultados, revisão.

Giovana Martins Coelho: recursos matemáticos, considerações finais, edição em \LaTeX , revisão.

Maria Clara Macêdo Lelis: resumo, aplicação (códigos e texto), revisão.

Rafaela Beatriz Silva Luz: recursos matemáticos, aplicação (texto), edição em \LaTeX , revisão.

Agradecimentos

Agradecemos ao professor Vinícius Francisco Wasques pela orientação do trabalho.

Referências

- Araújo Pessoa, I. de. Análise e extração de características de câncer de pele usando processamento digital de imagens. Accessed: 2024-12-30. Available from: <https://repositorio.ufrn.br/handle/123456789/53932>.
- AS, R.A. and Gopalan, S., 2022. Comparative analysis of eight direction sobel edge detection algorithm for brain tumor mri images. *Procedia computer science*, 201, pp.487–494.
- Bengtsson, E., Wahlby, C. and Lindblad, J., 2004. Robust cell image segmentation methods. *Pattern recognition and image analysis c/c of raspoznavaniye obrazov i analiz izobrazhenii.*, 14(2), pp.157–167.
- Broad, I. Cellprofiler - advanced modules. <https://cellprofiler-manual.s3.amazonaws.com/CellProfiler-4.2.1/modules/advanced.html>. Accessed: 2024-11-28.
- Centeno, J. Spatial filtering/ filtragem. https://docs.ufpr.br/~centeno/m_pdi/pdf/jaulapdi03.pdf. Accessed: 2024-11-01.
- Cuadros, O., Soriano-Vargas, A., Faiçal, B.S., Hamann, B., Fabro, A.T. and Traina, A.J.M., 2020. Efficient segmentation of cell nuclei in histopathological images. *2020 ieee 33rd international symposium on computer-based medical systems (cbms)*, pp.47–52. Available from: <https://ieeexplore.ieee.org/document/9182950>.
- Fisher, R., Perkins, S., Walker, A. and Wolfart, E., c2003. Image processing operator worksheets. <https://homepages.inf.ed.ac.uk/rbf/HIPR2/wksheets.htm>. Accessed: 2025-01-01.
- Jesus, E.O. and Costa Jr, R., 2015. A utilização de filtros gaussianos na análise de imagens digitais. *Proceeding series of the brazilian society of computational and applied mathematics*, 3(1).
- Junior, G.B. Filtros e morfologia. <https://nca.ufma.br/~geraldovc/4.filtros.pdf>. Accessed: 2024-11-01.
- Oliveira, B.F.S. de and Magalhães, F.T.A. de, 2005. Filtragem de imagens fixas usando matlab. *Feup*, nov. Available from: <https://web.fe.up.pt/~mandrade/tvd/2006/trabalhos1-2005/TD-trab1-Filtragem-de-imagens.pdf>.
- UFPR, n.d. Localização de bordas e pontos. *Ufpr - setor de ciências da terra - departamento de geomática*. Accessed: 2024-12-30. Available from: https://docs.ufpr.br/~centeno/p_pdi/pdf/jaulapdi07.pdf.
- Vahadane, A. and Sethi, A., 2013. Towards generalized nuclear segmentation in histological images. *13th ieee international conference on bioinformatics and bioengineering*. pp.1–4. Available from: <https://doi.org/10.1109/BIBE.2013.6701556>.