

Filtro Gaussiano Aplicado a 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 do filtro gaussiano no pré-processamento de imagens de microscopia biológica. Através da convolução 2D, o filtro atua como um passa-baixas, suavizando a imagem e reduzindo o ruído, sem comprometer as estruturas de interesse. A implementação em Python permitiu a aplicação prática em imagens reais, demonstrando a eficácia do filtro na segmentação e análise quantitativa de células. Os resultados obtidos corroboram a importância do filtro gaussiano para a biologia computacional, tornando-o uma ferramenta indispensável em softwares como o CellProfiler. A simplicidade computacional aliada à sua relevância prática posicionam o filtro gaussiano como um recurso interessante para a análise de imagens biológicas.

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, o filtro gaussiano, como passa-baixas, suaviza os traços da imagem ao atenuar as frequências altas, que estão associadas aos detalhes (Figura 1). Tal filtro possui alta aplicabilidade em imagens de microscopia das ciências da vida, pois a redução de ruídos auxilia na identificação de unidades biológicas. Por exemplo, [Vahadane and Sethi \(2013\)](#) consideram-no um estágio essencial de pré-tratamento de imagens histológicas para segmentação, pois núcleos borrados são identificados se houver a implementação prévia do filtro. 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.

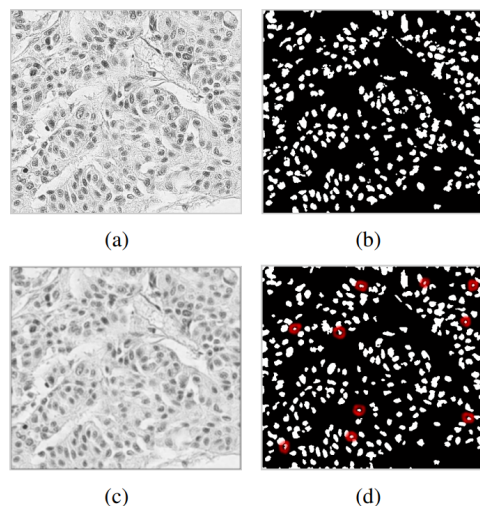


Figura 1: Células vistas em microscópio com e sem aplicação de filtro gaussiano (a e c). Ao lado (b e d), os núcleos identificados após tratamento completo da imagem em cada caso e, contornados de vermelho, os núcleos identificados apenas com pré-tratamento por suavização gaussiana. Fonte da imagem: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

Essa ferramenta também é importante para o CellProfiler, software de código aberto projetado para possibilitar que biólogos meçam quantitativamente fenótipos de várias imagens ([Kamentsky et al. \(2011\)](#)). A título de ilustração, [Soliman \(2015\)](#) utilizou o software para automatizar a segmentação de imagens para microscopia de super-resolução, conseguindo analisar o agrupamento em proteínas do complexo de poros nucleares a partir da sobreposição de objetos fundidos por desfoque gaussiano.

Tendo isso em vista, o presente trabalho se propõe a explicar simplificada e o funcionamento de um filtro gaussiano e implementar e aplicar o filtro a uma imagem de células, obtida por microscopia.

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):

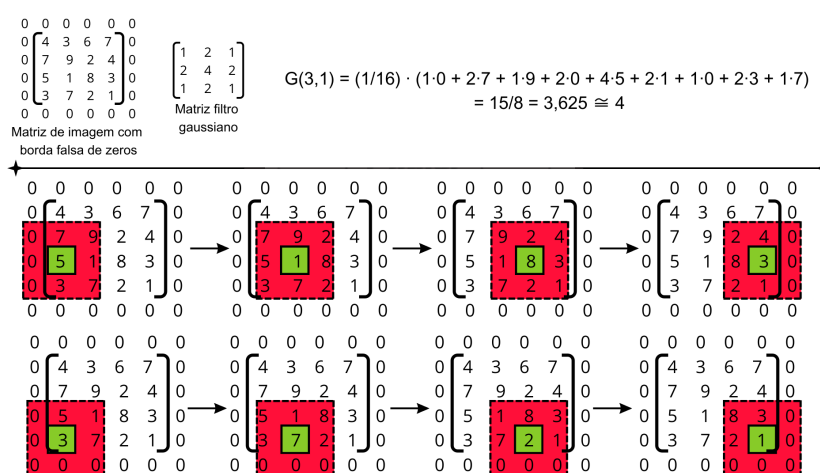


Figura 2: Ilustração de passos de uma convolução 2D por filtro gaussiano aproximado, o filtro está passando pela terceira e quarta linhas com o elemento central no filtro sendo o que será alterado por cada passagem. O exemplo de operação mostra como ficaria o valor do elemento $G(3, 1)$. Imagem baseada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

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 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 3). 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. Por isso, esse tipo de filtro é indicado para uso, por exemplo, em imagens biológicas com sinal de primeiro plano ruidoso ou próximo do nível de ruído. Já seu oposto, um filtro *passa-altas* enfoca em detalhes, gerando uma imagem realçada.

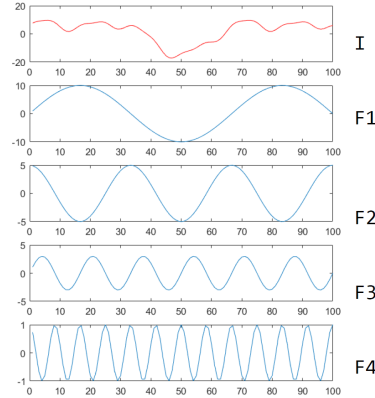


Figura 3: Uma imagem *I* pode ser descrita como combinação de várias funções senoidais *F* de frequências distintas (Centeno). As senoidais estão em ordem crescente de frequência.

2.3 Filtro gaussiano

O filtro gaussiano é um filtro passa-baixa, causando uma suavização da imagem e eliminação de ruídos de Oliveira and de Magalhães (2005). 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 Edison O. Jesus (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 Edison O. Jesus (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 Edison O. Jesus (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 Edison O. Jesus (2015):

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

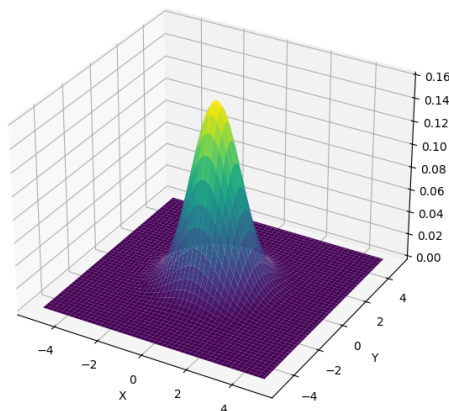


Figura 4: Exemplo de função gaussiana 2D, no filtro, o pico é sobreposto ao pixel central, com a diminuição da altura (que no filtro será o peso) dependente da distância desse pixel.

3 Aplicação

O filtro gaussiano foi implementado em um Jupyter Notebook (linguagem Python) e aplicado 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 o kernel de filtro gaussiano. Ao final, as imagens filtradas foram comparadas com as originais.

4 Resultados e Discussões

Após a implementação e aplicação do filtro gaussiano 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, é possível perceber a aplicabilidade do filtro gaussiano que suaviza a imagem, mas mantém seus elementos gerais. Isso pode ser observado ao comparar imagens com e sem filtro (Figuras 5 e 6). Além de evidenciar o motivo pelo qual este filtro é amplamente utilizado para o pré-processamento de imagens de microscopia biológica, por exemplo, para auxiliar na segmentação de unidades como células e núcleos. O código completo e explicado do projeto pode ser acessado no GitHub da equipe: <https://abrir.link/CMbzg>.

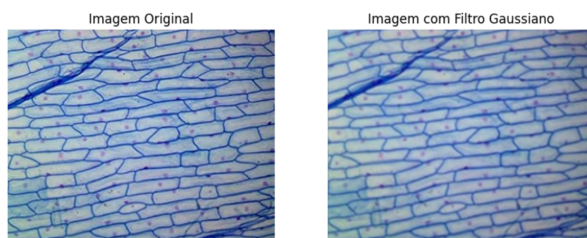


Figura 5: Células de cebola vistas em microscópio com e sem aplicação de filtro gaussiano pelo Cellprofiler. Fonte da imagem: <https://abrir.link/tOyry>.

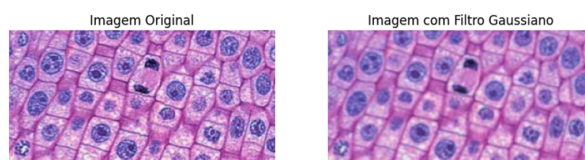


Figura 6: Células de tecido epitelial vistas em microscópio com e sem aplicação de filtro gaussiano pelo Cellprofiler. Fonte da imagem: <https://abrir.link/DRhqU>.

5 Considerações Finais

A partir deste trabalho, foi possível entender de forma aprofundada o funcionamento do filtro gaussiano e sua aplicação na análise de imagens de microscopia biológica. Essa técnica demonstrou ser um método eficiente para o processamento de imagens, proporcionando resultados que facilitam a interpretação e análise de estruturas celulares. A aplicação computacional do filtro gaussiano é relativamente simples: transforma-se a imagem em uma matriz numérica e, em seguida, realiza-se sua convolução através de um kernel previamente definido.

A matemática aplicada no processo, que envolve conceitos de funções gaussianas e operações matriciais, revelou-se acessível, demonstrando que o entendimento desse filtro não demanda um conhecimento técnico extremamente avançado.

Durante o desenvolvimento do estudo, foi possível reproduzir a funcionalidade estudada de forma bem-sucedida, permitindo observar como a análise das unidades biológicas se torna mais simples com a suavização da imagem, a qual diminui os ruídos e destaca características importantes.

Sendo assim, foi possível constatar que o filtro gaussiano possui simplicidade matemática e de aplicação aliadas a um efeito significativo. Esses são alguns dos motivos pelo qual ele é amplamente utilizado como etapa de pré-processamento de imagens em softwares de segmentação de unidades biológicas como o CellProfiler, que integra essa funcionalidade para tornar a análise de imagens de microscopia celular mais eficiente e reprodutível.

Link do GitHub: <https://abrir.link/CMbzg>.

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 (opcional)

Agradecemos ao professor Vinícius Francisco Wasques pelo trabalho.

Referências

- 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., Faical, 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>.
- Edison O. Jesus, R.C.J., 2015. A utilização de filtros gaussianos na análise de imagens digitais. *Proceeding series of the brazilian society of computational and applied mathematics*, v. 3, n. 1 (2015): Cnmac 2014, aug. Available from: <https://doi.org/10.5540/03.2015.003.01.0118>.
- Junior, G.B. Spatial filtering/ filtragem. <https://nca.ufma.br/~geraldovc/4.filtros.pdf>. Accessed: 2024-11-01.
- Kamentsky, L., Jones, T.R., Fraser, A., Bray, M.A., Logan, D.J., Madden1, K.L. and Ljosa1, V., 2011. Improved structure, function and compatibility for cellprofiler: modular high-throughput image analysis software. *Oxford academic*, abr. Available from: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr095>.
- 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-trabl-Filtragem-de-imagens.pdf>.
- Soliman, K., 2015. Cellprofiler: Novel automated image segmentation procedure for super-resolution microscopy. *Biol proced online*, 17, jul. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12575-015-0023-9>.
- 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>.