PIBIC/CNPEM 2021

Projeto: Processamento de imagens de microtomografia de raios-X via *machine*- e *deep-learning* em implantes de arcabouços de fosfatos de cálcio nanoestruturados aplicados à medicina regenerativa.

Pesquisador responsável: Victor Ramón Martinez Zelaya

Unidade: LNLS

Introdução

Um dos grandes desafios da pesquisa em biomateriais aplicados para regeneração de tecidos duros é a produção de arcabouços tridimensionais capazes de estimular e orientar a formação de tecido ósseo no processo de reparo. A biocerâmica hidroxiapatita (HA), é altamente conhecido para esta aplicação, devido a que é a principal matriz mineral do osso, e na sua forma sintética apresenta uma alta biocompatibilidade e bioatividade [1]. Portanto, o estudo da interação da HA com os tecidos ósseos em vários níveis - nano e micro - é um assunto essencial para criar *feedback* para o desenvolvimento de biomateriais mais ativos [2,3]. O estudo em modelos *in-vivo* em animais é o caminho mais eficiente para avaliar a qualidade do arcabouço utilizado, que combinado com a técnica não destrutiva de microtomografia de Raios X, é possível explorar aspectos básicos de interação tecido/material de uma maneira mais precisa [4]. Embora essa técnica nos permita visualizar como o processo acontece em determinados períodos de tempo, a quantificação estrutural e a proposta de modelos de dinâmica de crescimento requerem uma alta acurasse na segmentação das fases presentes na matriz. Neste ponto as estratégias de segmentação via *machine learning* e *deep learning* vem mostrando resultados mais precisos do que o próprio julgamento humano, tornando-se uma ferramenta essencial dentro das técnicas de imageamento por Raios X [5–7].

Estado da arte

Diversas metodologias são constantemente desenvolvidas para resolver problemas de segmentação avançada, algoritmos capazes de diferenciar textura, intensidade de cinza e bordas, entre eles a arquitetura de redes U-NET 2D e 3D vem mostrando resultados mais promissores e sólidos. T Nemoto et al. mostraram o nível de acurasse atingido por estas redes neurais segmentando tecido pulmonar [5]. H.M. Gonçalves et al. mostraram como a velocidade de processamento de segmentação pode ser incrementada em 180x vezes, quando os processos são implementados via CUDA, junto com a geração de superpixels. Reznikov et al. [8] mostraram o potencial dos processos de segmentação via *Deep learning* para interpertação de tecidos biomineralizados em imagens de microtomografia de Raios-X e Microscopia Eletrônica de varredura acoplado à feixe de ions focalizado (SEM-FIB) no modo *slice and view.* Estes exemplos mostram o grande avanço da inteligencia articicial para interpretar patrões e classifica-los de forma rápida e com alta precissão, agilizando a análise dos dados.

Objetivos

- Desenvolver protocolos de segmentação automática e eficiente de imagens de microtomografia de implantes de fosfatos de cálcio nanoestruturados.

- Quantificar parâmetros morfológicos relevantes na interação biomaterial/tecido neoformado, tais como: arquitetura de crescimento ósseo, interface biomaterial/tecido, porosidade, interconexão de canalículos em diferentes estágios de mineralização.

- Participar dos primeiros experimentos de micro/nano-tomografia que serão realizados na linha de luz MOGNO: preparo de amostra, aquisição e processamento de dados.

Metodologia

Este projeto consiste em automatizar processos de aprendizado de máquina, partindo de propor um protocolo de segmentação adequado para o tipo de amostra em questão, no caso implantes de fosfatos de cálcio nanoestruturados em formato de microesferas. As primeiras imagens a serem analisadas são microtomogramas de implantes adquiridos previamente na linha de luz IMX, considerando diversos materiais, tais como HA e hidroxiapatita carbonatada (cHA) sintetizadas a temperaturas de 37 °C e 90 °C, com e sem tratamento térmico a 900 °C. Para este fim serão utilizados os computadores de alto desempenho (HPCs) disponíveis no CNPEM, a principal ferramenta será o software Annotat3D, programa desenvolvido pelo grupo de Computação Científica do LNLS.

A primeira etapa consiste em treinar o classificador para aprender a identificar as diferentes fases presentes nas amostras, que são: matriz óssea preexistente, osso novo formado, biomaterial, osso novo formado na superfície do biomaterial, poros do biomaterial e *background.*

Uma vez atingido o grau de segmentação ideal, a segunda etapa consiste em utilizar esse mesmo classificador para interpretar e segmentar automaticamente as fases presentes em amostras semelhantes, cuja única diferencia seria o material implantado. Para isso será utilizada a ferramenta de *Deep Learning* já integrada no próprio programa, onde diversas arquiteturas de rede, filtros, e condições deveram ser testadas de tal forma a conseguir propor um protocolo para este tipo de amostras.

A terceira etapa consiste em quantificar parâmetros morfológicos no sistema analisado, tais como orientação, grau de fragmentação, interconexão, porosidade, interface osso/biomaterial. Este ponto será conduzido utilizando *softwares* de tratamento de imagens, como Avizo e ImageJ, que dispõem de diversas ferramentas quantitativas e de modelagem, complementado com eventuais desenvolvimentos de *scripts* em Matlab e Python.

O aluno também terá oportunidade de participar dos primeiros experimentos relacionados a implantes ósseos feitos na linha de luz, desde o preparo de amostras até a análise dos dados.

Bibliografía

[1] W. Habraken, P. Habibovic, M. Epple, M. Bohner, Calcium phosphates in biomedical applications: materials for the future?, Mater. Today. 19 (2016) 69–87.

https://doi.org/10.1016/J.MATTOD.2015.10.008.

[2] R.E. Guldberg, C.L. Duvall, A. Peister, M.E. Oest, A.S.P. Lin, A.W. Palmer, M.E. Levenston, 3D imaging of tissue integration with porous biomaterials, Biomaterials. 29 (2008) 3757–3761. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.06.018.

[3] N. Reznikov, M. Bilton, L. Lari, M.M. Stevens, R. Kröger, Fractal-like hierarchical organization of bone begins at the nanoscale, Science (80-.). 360 (2018). https://doi.org/10.1126/science.aao2189.

[4] V.R. Martinez-Zelaya, N.L. Archilha, M. Calasans-Maia, M. Farina, A.M. Rossi, Trabecular architecture during the healing process of a tibial diaphysis defect, Acta Biomater. 120 (2021) 181–193. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.08.028.

[5] T. Nemoto, N. Futakami, M. Yagi, A. Kumabe, A. Takeda, E. Kunieda, N. Shigematsu, Efficacy evaluation of 2D, 3D U-Net semantic segmentation and atlas-based segmentation of normal lungs excluding the trachea and main bronchi, J. Radiat. Res. 61 (2020) 257–264. https://doi.org/10.1093/jrr/rrz086.

[6] H.M. Gonçalves, G.J.Q. De Vasconcelos, P.R.R. Rangel, M. Carvalho, N.L. Archilha, T. V. Spina, CudaIFT: 180x Faster image foresting transform for waterpixel estimation using CUDA, VISIGRAPP 2019 - Proc. 14th Int. Jt. Conf. Comput. Vision, Imaging Comput. Graph. Theory Appl. 4 (2019) 395–404. https://doi.org/10.5220/0007402703950404.

[7] Y.J. Kim, B. Ganbold, K.G. Kim, Web-based spine segmentation using deep learning in computed tomography images, Healthc. Inform. Res. 26 (2020) 61–67. https://doi.org/10.4258/hir.2020.26.1.61.

[8] N. Reznikov, D.J. Buss, B. Provencher, M.D. McKee, N. Piché, Deep learning for 3D imaging and image analysis in biomineralization research, J. Struct. Biol. 212 (2020) 107598. https://doi.org/10.1016/j.jsb.2020.107598.