










# Desenvolvimento de uma Plataforma Automatizada de Segmentação de Imagens para Ensaios de Migração Celular Baseada em Inteligência Artificial

## Development of an Automated Image Segmentation Platform for Cell Migration Assays Based on Artificial Intelligence

Nycolas Mariotto<sup>1</sup> , Geovana A. Dos Santos<sup>1</sup> , Geovana R. Fioschi<sup>1</sup> , Andria C. M. Higino<sup>1</sup> , Luís F. P. Passeti<sup>1</sup> , Thainá O. B. Pereira<sup>1</sup> , Gabriela M. Zampieri<sup>1</sup> , Valéria C. Sandrim<sup>1</sup> , Allan F. F. Alves<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Departamento de biofísica e farmacologia, Instituto de biociências de Botucatu, Unesp.

### Resumo

A análise de imagens biomédicas tem se beneficiado significativamente dos avanços em inteligência artificial, especialmente com o uso de redes neurais convolucionais (CNNs) aplicadas à segmentação de estruturas celulares. Este trabalho propôs o desenvolvimento de uma ferramenta de visão computacional baseada na web para automatizar a análise de ensaios de migração celular (*wound healing*), substituindo o método manual tradicional realizado via *ImageJ*. Foram coletadas e processadas 1.040 imagens, convertidas, normalizadas, redimensionadas e expandidas por técnicas de *data augmentation*, totalizando 4.160 imagens utilizadas para treinamento. A segmentação foi anotada no *Roboflow*, utilizando a ferramenta *Smart Polygon* em conjunto com o modelo *Segment Anything Model 2* (SAM2). A ferramenta final foi disponibilizada em uma interface interativa na plataforma *Hugging Face Spaces*, permitindo o upload e a análise automática de imagens com sobreposição gráfica dos resultados. A eficácia da ferramenta foi avaliada comparando-se a análise manual e a automatizada em conjuntos de imagens analisados por três operadores independentes. Observou-se que o modelo *Roboflow fast* apresentou desempenho superior ao YOLOv11 fast (mAP@50 = 94,9; precisão = 99,6%; recall = 87,7%) e promoveu maior consistência entre operadores, reduzindo a variabilidade interobservador observada no método tradicional. Os resultados evidenciam que a solução automatizada reduz significativamente o tempo de análise, elimina subjetividades e melhora a reprodutibilidade, destacando-se como uma alternativa eficiente, padronizada e acessível para estudos de migração celular.

**Palavras-chave:** inteligência artificial; *wound healing*; segmentação de imagens; Roboflow; visão computacional.

### Abstract

Biomedical image analysis has significantly benefited from advances in artificial intelligence, particularly through the application of convolutional neural networks (CNNs) for cellular structure segmentation. This study proposed the development of a web-based computer vision tool to automate the analysis of cell migration assays (*wound healing*), replacing the traditional manual method performed using *ImageJ*. A total of 716 images were collected, converted, normalized, resized, and expanded through data augmentation techniques, resulting in 4,160 images used for training. Segmentation annotations were performed using Roboflow with the Smart Polygon tool and the Segment Anything Model 2 (SAM2). The final tool was made available through an interactive interface on the Hugging Face Spaces platform, enabling users to upload and automatically analyze images with graphical overlay of the results.

The effectiveness of the tool was evaluated by comparing manual and automated analyses across datasets reviewed by three independent operators. The Roboflow fast model demonstrated superior performance compared to YOLOv11 fast (mAP@50 = 94.9; precision = 99.6%; recall = 87.7%) and improved inter-operator consistency, reducing the variability observed in the traditional manual method. These results demonstrate that the automated solution significantly reduces analysis time, eliminates subjectivity, and enhances reproducibility, establishing itself as an efficient, standardized, and accessible alternative for cell migration studies.

**Keywords:** artificial intelligence; wound healing; image segmentation; Roboflow; computer vision.

### 1. Introdução

Nos últimos dez anos houve progressos significativos em técnicas computacionais que têm revolucionado o campo da análise de imagens médicas e impulsionado o surgimento da área da radiômica. Essas abordagens buscam extrair informações quantitativas e qualitativas das imagens biomédicas para identificar padrões complexos que muitas vezes não são percebidos facilmente por especialistas. Ao combinar radiômica com inteligência artificial (IA), tem-se observado grande potencial na automatização dos processos de diagnóstico, especialmente diante das limitações humanas na interpretação e da necessidade

crescente por maior precisão clínica (1,2). Entre as técnicas mais promissoras estão as redes neurais convolucionais (CNNs), amplamente empregadas na detecção de anomalias, segmentação de estruturas anatômicas e classificação de patologias. Modelos como *ResNet*, *U-Net* e *R-CNN* têm sido utilizados com êxito em estudos biomédicos, demonstrando grande eficiência na análise automatizada de imagens médicas (3,4). Essas abordagens não apenas auxiliam na detecção de doenças, como também contribuem para a identificação precisa de áreas de interesse, melhorando o suporte à tomada de decisão clínica (5).

O uso da inteligência artificial na área biomédica trouxe benefícios substanciais, como a capacidade de processar grandes volumes de dados clínicos e de imagens de forma rápida e fundamentada (6), além de possibilitar a identificação precoce de doenças, muitas vezes antes do surgimento de sinais clínicos. A IA também vem se destacando na personalização de tratamentos, ao integrar informações genômicas, clínicas e radiológicas (7). Em locais com recursos limitados, a automação inteligente pode contribuir para suprir a carência de especialistas e democratizar o acesso a diagnósticos de qualidade.

Além da aplicação em diagnósticos clínicos convencionais, a IA tem se mostrado promissora em estudos experimentais, como os ensaios de migração celular (*wound healing assays*), onde sua utilização pode aumentar a precisão, padronização e eficiência na análise. Tradicionalmente, a quantificação da área de migração celular depende de softwares como o *ImageJ*, que exigem ajustes manuais no *threshold* ou demarcações feitas manualmente, introduzindo variabilidade e limitando a escalabilidade do processo (8). O uso de algoritmos de visão computacional baseados em CNNs permite a detecção automática e segmentação precisa das áreas de interesse ao longo do tempo, minimizando erros humanos e acelerando o processo. Além disso, essas técnicas possibilitam a extração de múltiplos atributos morfométricos para prever padrões de migração celular em resposta a diferentes estímulos, como aplicação de plasma ou variações em fatores de crescimento (1,5).

O objetivo do presente trabalho foi desenvolver uma ferramenta de visão computacional hospedada na web para comparar os resultados manuais obtidos por especialistas com aqueles gerados automaticamente por modelos treinados, avaliando sua acurácia, reprodutibilidade e aplicabilidade no contexto de análises de migração celular.

## 2. Materiais e Métodos

As células endoteliais da veia umbilical humana (HUVEC-EA. hy 926) fornecidas pelo banco de células do Rio de Janeiro (BCRJ) foram cultivadas até atingirem 80-90% de confluência e tratadas com meio de cultura suplementado DMEM (Gibco, Waltham, MA, EUA) suplementado com 10% (v/v) de soro bovino fetal (FBS), 100 U/mL de penicilina, 100 µg/mL de estreptomicina e 2 mmol/L de L-Glutamina (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, EUA), a 37 °C e 5% de CO<sub>2</sub>.

Para o experimento de migração, as células foram semeadas e em seguida, foram incubadas na presença de 10% (p/v) de pool de plasma de pacientes em dois grupos experimentais diferentes denominados G1 e G2. Um arranjo linear foi gerado em placas de 48 poços usando uma ponta de pipeta estéril. A mesma região arranhada foi fotografada nos tempos 0, 8, 12 e 24 horas por microscópio invertido (Axiovert Zeiss) equipado com uma câmera digital.

As imagens obtidas ao longo do ensaio foram submetidas a um fluxo padronizado de preparação, avaliação e organização, com o objetivo de garantir qualidade, uniformidade e compatibilidade com os

modelos de inteligência artificial utilizados na etapa posterior de análise. Inicialmente, todas as imagens foram convertidas para *arrays NumPy* e normalizadas para o intervalo [0,1] (9). Em seguida, as imagens normalizadas foram transformadas para escala de cinza, reduzindo a dimensionalidade dinâmica (9). Na etapa seguinte, os arquivos de imagem no formato TIFF foram convertidos para PNG, mantendo-se a estrutura original dos diretórios. Posteriormente, todas as imagens foram redimensionadas para 640 × 640 pixels para garantir compatibilidade com os modelos de segmentação utilizados (10).

Para aumentar a robustez dos modelos, foi realizado um processo de data augmentation. A partir de 716 imagens originais, foram geradas 4.160 novas imagens por meio de transformações como espelhamento horizontal e vertical, zoom aleatório de 0% a 30% e variações de brilho de -15% a +15% (10).

O processo de anotação das regiões de interesse foi realizado na plataforma *Roboflow*. Além da organização dos dados, o *Roboflow* oferece a ferramenta *Smart Polygon* e a *Segment Anything Model 2 (SAM2)*, permitindo ajustes manuais finos dos polígonos (11,12). As imagens foram divididas em 70% para treinamento, 20% para validação e 10% para teste (9).

Foi implementada na interface desenvolvida na plataforma *Hugging Face Spaces*, uma funcionalidade que permite ao usuário alterar o intervalo de confiança (*confidence threshold*) entre 20% e 100%, sendo 80% o valor padrão. Esse parâmetro define o nível mínimo de confiança que o modelo deve atingir para considerar uma detecção ou segmentação como válida. Um *threshold* mais baixo aumenta a sensibilidade, enquanto valores mais altos privilegiam a precisão, equilibrando a detecção de verdadeiros positivos e a redução de falsos positivos.

Os resultados são apresentados com sobreposição gráfica sobre a imagem original, proporcionando uma análise objetiva, rápida e reprodutível (11). A automatização elimina a necessidade de ajustes manuais e garante padronização entre amostras, mesmo quando realizadas por diferentes operadores.

Para fins comparativos, utilizou-se o fluxo tradicional de análise descrito no protocolo laboratorial institucional. Nesse método, as imagens são processadas utilizando o software *ImageJ*, com o auxílio do plug-in *Wound Healing Size Tool* (11). Cada imagem é aberta individualmente, sendo necessário ajustar manualmente o valor de *threshold* para que o software reconheça corretamente a área da ferida. Quando o processo automático falha, a delimitação é feita manualmente pelo operador. Os dados gerados (em pixels) são exportados para o Excel, normalizados com base na média das áreas iniciais (tempo 0 h), e posteriormente analisados no *GraphPad Prism* por meio de gráficos e testes estatísticos.

Esse processo manual, embora amplamente utilizado, é lento, subjetivo e propenso a erros, levando em média de 3 a 5 minutos por imagem e exigindo experiência do operador para ajustes finos.

Além disso, as diferenças individuais nos critérios de análise comprometem a reprodutibilidade interobservador e dificultam comparações entre experimentos e estudos clínicos.

As imagens analisadas foram agrupadas conforme a origem do material experimental. Os grupos são de células que foram incubadas com plasma de gestantes em dois grupos experimentais G1 e G2. Essas distinções permitiram a avaliação do comportamento celular em diferentes contextos fisiopatológicos. A área de fechamento é uma medida quantitativa que representa a progressão da cicatrização da ferida ao longo do tempo. Esta é calculada pela diferença entre a área inicial da ferida (0h) e a área remanescente em tempos subsequentes, refletindo o avanço da migração celular sobre a região lesionada. Para avaliar a eficácia dos modelos de segmentação utilizados na análise automatizada do ensaio de migração celular (*wound healing*), foram testados dois modelos: *Roboflow fast* e *YOLOv11 fast*. A performance de cada modelo foi medida por meio de três métricas principais: mAP@50 (média de precisão com sobreposição mínima de 50%) precisão e recall.

### 3. Resultados

A Figura 1 mostra a interface web na qual os usuários tiveram acesso, na qual utilizou-se uma configuração para escolha do grau de confiança da segmentação (sendo 80% o padrão), e a possibilidade de carregamento de imagem única ou de uma pasta de imagens.



Figura 1. Interface web de acesso aberto aos usuários

Após carregamento, exibe-se uma barra de progresso da segmentação do modelo e em seguida os resultados são automaticamente carregados. A Figura 2 demonstra a imagem original carregada na interface pelo usuário e o resultado da segmentação feita pelo algoritmo.

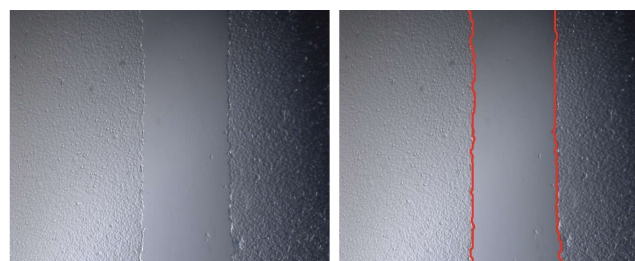


Figura 2. Imagem original carregada pelo usuário e o resultado da segmentação automática.

Ao final da segmentação, os dados são compilados e exibidos no formato de tabela. São três colunas de exibição, sendo uma de referência da ordem dos arquivos, uma segunda com o nome da imagem, e uma terceira com a área central segmentada. A área é quantificada em relação ao número de pixels dentro da região segmentada. A interface ainda oferece a opção de download da tabela e das imagens segmentadas e seus respectivos polígonos conforme figura 3.

**Tabela de Resultados**

	Imagem	Área Segmentada (px <sup>2</sup> )
0	0h_A2 0hr 2.png	132,407.5
1	8h_A2 8hr 1.png	76,339.5
2	12h_A2 12hr 2.png	62,050.5
3	24h_A2 24h 2.png	21,252.5

Baixar Tabela (Excel)

Baixar Todas as Imagens Segmentadas e Polígonos

Figura 3. Resultado da segmentação de uma pasta de 4 arquivos carregadas pelo usuário.

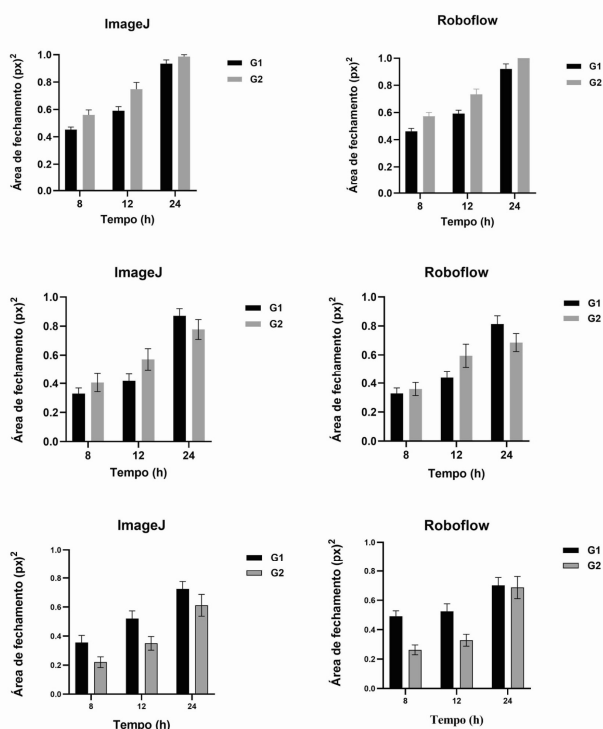
A tabela 1 apresenta a performance de cada modelo, medida por meio de três métricas principais: mAP@50 (média de precisão com sobreposição mínima de 50%), precisão e recall.

**Tabela 1. Resultado dos modelos**

Modelo	mAP@50	Precisão	Recall
Roboflow fast	94.9	99.6	87.7
YOLOv11 fast	92.0	97.9	84.9

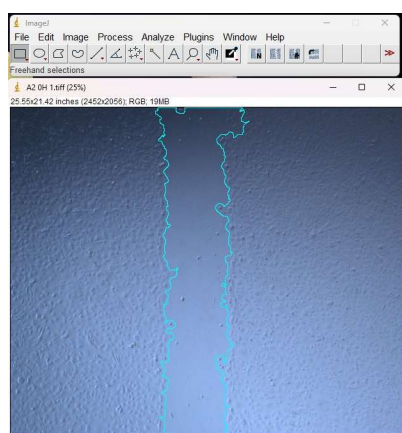
Fonte: O autor (2025).

Na figura 4 são apresentadas as comparações entre os métodos de análise manual, realizados com o software ImageJ, e o método automatizado desenvolvido com o modelo Roboflow, aplicados na avaliação da área de fechamento celular ao longo do tempo (8h, 12h e 24h). As análises foram conduzidas de forma independente por três operadores distintos, permitindo a avaliação da reprodutibilidade interobservador.



**Figura 4.** Comparação entre a análise manual (*ImageJ*) e a análise automatizada (*Roboflow*) da área de fechamento celular em diferentes tempos (8h, 12h e 24h), realizada pelos observadores 1, 2 e 3. Os gráficos mostram a evolução da média e do desvio padrão da área segmentada para os grupos experimentais G1 e G2.

A Figura 5 apresenta um exemplo do processo de segmentação da área da ferida por meio do software *ImageJ*. Observa-se um cenário em que a ferramenta automática *Wound Healing Size Tool* foi eficaz na identificação da região de interesse. No entanto, em determinadas situações, essa ferramenta pode apresentar limitações, sendo necessária a intervenção manual com o *plug-in Wound Healing Size Manual Tool*. As falhas mais recorrentes incluem a não detecção da área do arranhão ou a segmentação imprecisa fora da região-alvo, exigindo ajustes manuais por parte do operador.



**Figura 5.** Exemplo de segmentação automática bem-sucedida realizada com o *plug-in Wound Healing Size Tool* no *ImageJ*, que detecta automaticamente os contornos da ferida.

## 4. Discussão

O modelo *Roboflow fast* demonstrou desempenho superior, alcançando um *mAP@50* de 94,9, com precisão de 99,6% e *recall* de 87,7%, evidenciando sua alta capacidade de detectar corretamente a área da “ferida” com mínima taxa de falsos positivos e excelente cobertura das regiões reais. Em comparação, o modelo *YOLOv11 fast* apresentou desempenho ligeiramente inferior, com *mAP@50* de 92,0, precisão de 97,9% e *recall* de 84,9%, ainda mantendo bons níveis de acurácia.

A integração do modelo *Roboflow* à interface interativa desenvolvida na plataforma *Hugging Face Spaces* trouxe ganhos consideráveis para o fluxo de análise, permitindo que usuários enviem imagens e obtenham segmentações automáticas em tempo real, com sobreposição visual direta na tela. Essa interface eliminou a necessidade de ajustes manuais, reduziu drasticamente o tempo de análise por imagem (de 3–5 minutos para alguns segundos) e proporcionou maior reprodutibilidade entre usuários, eliminando vieses subjetivos comuns ao método tradicional. Além disso, sua usabilidade intuitiva torna a ferramenta acessível mesmo para pesquisadores sem conhecimento prévio em programação ou visão computacional, promovendo uma solução eficiente, padronizada e escalável para análise de imagens em estudos de migração celular.

A eficácia do modelo *Roboflow* também foi evidenciada na comparação direta entre o método manual, realizado com *ImageJ*, e o método automatizado, considerando três observadores distintos. Para essa avaliação, foram analisadas 64 imagens pelo observador 1, 96 imagens pelo observador 2 e 144 imagens pelo observador 3 (Figura 4), reforçando a robustez estatística dos dados obtidos. Em todas as comparações, o modelo automatizado apresentou menor variabilidade interobservador, evidenciada pelas barras de erro mais estreitas nos gráficos gerados a partir do *Roboflow*. Embora ambos os métodos tenham mantido a tendência esperada de aumento progressivo da área de fechamento celular ao longo do tempo (8h, 12h e 24h), o método automatizado demonstrou maior consistência entre os operadores, ao passo que o método manual, via *ImageJ*, revelou maior dispersão dos dados, reflexo da subjetividade envolvida no ajuste do *threshold* e na delimitação manual das áreas de interesse.

Notavelmente, em casos específicos como nas análises de 8 horas feitas pelo observador 2, o *Roboflow* demonstrou maior capacidade de discriminar diferenças sutis entre os grupos experimentais G1 e G2. Esse comportamento sugere uma maior sensibilidade do modelo automatizado em captar variações biológicas que podem ser imperceptíveis na análise manual.

Com base na análise dos gráficos entre os grupos G1 e G2, nota-se que o método automatizado desenvolvido apresenta média similar à abordagem manual feita pelo *ImageJ*, e possui desvio padrão inferior em todos os grupos analisados.



A padronização do processo, a redução de erros humanos e a estabilidade estatística dos resultados obtidos com a ferramenta automatizada reforçam sua superioridade em relação ao método tradicional. Esses achados validam as técnicas de inteligência artificial como uma solução eficiente para estudos que envolvam análise de imagens em grande escala, oferecendo ganhos substanciais em reprodutibilidade, velocidade de processamento e confiabilidade dos dados.

Portanto, o sistema automatizado proposto representa uma evolução metodológica significativa, com potencial de ser integrado a fluxos de trabalho laboratoriais em biologia celular e pesquisa translacional, promovendo precisão, eficiência e escalabilidade nas análises de ensaios de migração celular.

## 5. Conclusões

A integração de técnicas de visão computacional e inteligência artificial na análise de ensaios de migração celular demonstrou ser uma alternativa superior ao método manual tradicional, proporcionando ganhos substanciais em precisão, rapidez, reprodutibilidade e acessibilidade. O modelo *Roboflow fast* foi o mais eficiente atingindo mais de 99% de precisão. Quando integrado a uma interface web intuitiva, permitiu a segmentação automatizada de imagens com alta confiabilidade e sensibilidade, reduzindo significativamente a variabilidade interobservador e aprimorando a detecção de diferenças entre condições experimentais. Além de otimizar o tempo de análise, o sistema proposto favoreceu a padronização, e permitiu que mesmo usuários sem experiência em computação, ou visão computacional pudessem utilizá-lo com rapidez. Dessa forma, este trabalho reforça o potencial da inteligência artificial como ferramenta assistencial em análises de imagens biomédicas, promovendo inovação, eficiência e rigor científico nos fluxos de trabalho experimentais.

## Agradecimentos

Este trabalho foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), sob o número de Processo 2024/01849-4, sob os números de Processo 2021/12010-7 e Processo 2024/01849-4. Este trabalho também foi financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), processos nº 308504/2021-6, nº 444682/2024-4 e nº 302614/2025-7.

## Referências

- GILLIES, R. J.; KINAHAN, P. E.; HRICAK, H. Radiomics: Images Are More than Pictures, They Are Data. *Radiology*, v.278, n.2, p.563–577, February 2016
- Kumarganesh S, Shree KVM, Rishabavarthani P. Aggregated approach for interstitial lung diseases classification using attention based CNN and radial basis function neural network. *Int J Intell Soft Comput*. 2025
- Niu H, Li L, Wang X, Xu H. The value of predicting breast cancer with a DBT 2.5 D deep learning model. *Discov Oncol*. 2025
- Abbas GH, Khouri ER, Thaher O, Taha S, Al-Khateeb M, Khalid A, et al. Predictive modeling for metastasis in oncology: current methods and future directions. *Ann Med Surg*. 2025
- Yordanova M. The current state of artificial intelligence in radiology: a review of the basic concepts, applications, and challenges. *J IMAB*. 2025;31(1):6103–6107
- Roblero J, Reyes-Medrand DJ, Plaza NA, Martin-Landrove M, López-Jiménez F, Pérez-Ruiz E, et al. Automated segmentation and classification of meningiomas using AI techniques. *IET Conf Proc*. 2025
- Zhang Z, Ding Y, Lin K, Ban W, Ding L, Sun Y, et al. Development of an MRI-based artificial intelligence model for identifying atrial fibrillation after ischemic stroke: a multicenter proof-of-concept analysis. *EClinicalMedicine*. 2025
- Mei K, Feng Z, Liu H, Wang M, Ce C, Yin S, et al. Preoperative prediction of pulmonary ground-glass nodule infiltration status by CT-based radiomics combined with neural networks. *BMC Cancer*. 2025
- Ultralytics Inc. SAM 2: Segment Anything Model 2 [Internet]. Ultralytics YOLO Documentation; 2025 [cited 2025 Sep 15]. Available from: <https://docs.ultralytics.com/pt/models/sam-2/>
- Chlap, P., Min, H., Vandenberg, N., Dowling, J., Holloway, L. and Haworth, A. (2021), A review of medical image data augmentation techniques for deep learning applications. *J Med Imaging Radiat Oncol*, 65: 545-563.
- Suarez-Arnedo A, Torres Figueroa F, Clavijo C, Arbeláez P, Cruz JC, Muñoz-Camargo C (2020) An image J plugin for the high throughput image analysis of in vitro scratch wound healing assays. *PLoS ONE* 15(7): e0232565.
- Dwyer B, Nelson J, Hansen T, et al. Roboflow: computer vision platform [software]. Version 1.0. 2024

## Contato:

Nycolas Mariotto  
Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu  
Rua Prof. Dr. Antonio Celso Wagner Zanin, s/n,  
Distrito de, Av. Rubião Jr - Jardim São Jose, Botucatu - SP, 18618-689  
n.mariotto@unesp.br