

UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI

DANIEL SERODIO DURIGAN

**UTILIZAÇÃO DE REDES NEURAS ARTIFICIAIS NA
DIFERENCIAÇÃO DE ESPECTROS RAMAN PARA DIAGNÓSTICO DE
CÂNCER DE PELE NÃO MELANOMA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**MESTRADO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA PROGRAMA
DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU***

São José dos Campos, 02/2023

UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI

DANIEL SERODIO DURIGAN

**UTILIZAÇÃO DE REDES NEURAIAS ARTIFICIAIS NA
DIFERENCIAÇÃO DE ESPECTROS RAMAN PARA DIAGNÓSTICO DE
CÂNCER DE PELE NÃO MELANOMA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Engenharia Biomédica – Mestrado, da Universidade Anhembi Morumbi, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Biomédica.

Orientador: Prof. Dr. Landulfo Silveira Jr.

São José dos Campos, 02/2023

UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI

DANIEL SERODIO DURIGAN

**UTILIZAÇÃO DE REDES NEURAIAS ARTIFICIAIS NA
DIFERENCIAÇÃO DE ESPECTROS RAMAN PARA DIAGNÓSTICO DE
CÂNCER DE PELE NÃO MELANOMA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Engenharia Biomédica – Mestrado, da Universidade Anhembi Morumbi, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Biomédica aprovada pela seguinte Banca Examinadora:

Prof. Dr. Landulfo Silveira Jr.
Orientador Mestrado
em Engenharia Biomédica
Universidade Anhembi Morumbi

Prof. Dr. Alderico Rodrigues de Paula Júnior
Instituto de Aeronáutica e Espaço

Prof. Dr. Carlos José de Lima
Universidade Anhembi Morumbi

Prof. Dr. Renato Amaro Zângaro (coordenação)
Universidade Anhembi Morumbi

Prof. Dr. Leandro Procópio Alves (suplente)
Universidade Anhembi Morumbi

São José dos Campos, 02/2023

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização da Universidade, do autor e do orientador.

DANIEL SERODIO DURIGAN

Graduado em Engenharia Biomédica pela Universidade do Vale do Paraíba, pós-graduado em Engenharia de Segurança do Trabalho pela Escola Superior de Pós-graduação.

Ficha Catalográfica

D961u Durigan, Daniel Serodio
Utilização de redes neurais artificiais na diferenciação de espectros Raman para diagnóstico de câncer de pele não melanoma / Daniel Serodio Durigan – 2023.
81f: 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Landulfo Silveira Jr.
Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) - Universidade Anhembi Morumbi, São José dos Campos, 2023.
Bibliografia: f. 72-79.

1. Engenharia Biomédica. 2. Espectros Raman. 3. Câncer de Pele.
4. Rede Neural Artificial (RNA). 5. Diagnóstico. Título.

CDD 610.28

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais que me ensinaram desde cedo o caminho correto a seguir, e a minha companheira de vida, Michele, que a todo o momento está ao meu lado sorrindo e apoiando todas minhas decisões.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, ao professor Landulfo Silveira Jr. pela orientação e paciência durante toda a trajetória para montagem desta dissertação, a todos os professores do programa de Pós-graduação em Engenharia Biomédica da Universidade Anhembi Morumbi que de alguma forma contribuíram para o engrandecimento desta.

RESUMO

O câncer de pele não melanoma apresenta grande potencial de cura quando diagnosticado precocemente. A espectroscopia Raman pode ter um amplo papel de ajuda para este diagnóstico. Devido à dificuldade da interpretação dos espectros causada pelas pequenas diferenças que existem na composição dos tecidos normal e câncer de pele não melanoma, este trabalho teve como objetivo utilizar ferramentas de inteligência artificial (redes neurais profundas) para classificação dos espectros obtidos *in vivo* de regiões normais e tumorais. Sete redes neurais *feedforward* com algoritmo *backpropagation* foram aplicadas nos espectros Raman, alternando-se o número de camadas ocultas e neurônios por camada. Através das redes criadas, obteve-se uma acurácia total de 95,5% no modelo de rede neural com uma camada oculta e 10 neurônios nesta camada visando diferenciação entre tecidos Não Tumoral e Tumoral, acurácia total de 93,2% na diferenciação entre tecidos Normal, Carcinoma Basocelular (CBC), Carcinoma Espinocelular (CEC), Ceratose Actínica (CERAT) e Lesão Benigna (BEN), e acurácia total de 93,7% no modelo visando diagnóstico diferencial das lesões de pele não melanoma (CBC, CEC, CERAT e BEN), mostrando assim o grande potencial na utilização da espectroscopia Raman em conjunto com as redes neurais artificiais para o diagnóstico de câncer de pele não melanoma.

Palavras-chave: espectroscopia Raman, câncer de pele, rede neural artificial (RNA), diagnóstico.

ABSTRACT

USE OF ARTIFICIAL NEURAL NETWORKS IN RAMAN SPECTRA FOR DIAGNOSIS OF NON-MELANOMA SKIN CANCER

Non-melanoma skin cancer has a great potential of cure when early diagnosed. Raman spectroscopy may have a broad role to help with this diagnosis. Due to the difficulty of the interpretation of the spectra caused by the small differences that exist in the composition of normal tissues compared to non-melanoma skin cancers, this study aimed to use artificial intelligence tools (artificial neural networks – ANNs) to classify the Raman spectra obtained *in vivo* from normal and tumor regions. Seven feedforward neural networks with a backpropagation algorithm were applied in the Raman spectra, alternating the number of hidden layers and neurons per layer. Through the networks created, overall accuracy of 95.5% was obtained in the ANN model with one hidden layer and 10 neurons in this layer aiming at differentiating between Non-Tumor and Tumor tissues. Overall accuracy of 93.2% was achieved in differentiating between Normal tissues, Basal Cell Carcinoma (BCC), Squamous Cell Carcinoma (SCC), Actinic Keratosis (AK) and Benign Lesion (BEN), and overall accuracy of 93.7% was achieved in the differential diagnosis between non-melanoma skin lesions (BCC, SCC, AK, and BEN). The results demonstrated the great potential for using Raman spectroscopy in conjunction with ANNs for the diagnosis of non-melanoma skin cancers.

Keywords: Raman spectroscopy, skin cancer, artificial neural network (ANN), diagnosis.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
1.1	Câncer de pele	15
1.2	Espectroscopia Raman.....	16
1.2.1	Histórico do espalhamento Raman	18
1.2.2	Espalhamento da radiação.....	19
1.2.2.1	Radiação eletromagnética.....	19
1.2.2.2	Interação da radiação eletromagnética com a matéria	21
1.2.3	Aplicações da espectroscopia Raman	25
1.3	Aprendizado de máquina.....	26
1.3.1	Redes neurais	29
1.3.1.1	Fundamentos biológicos	30
1.3.1.1.1	Neurônio.....	29
1.3.1.1.2	Potencial de ação.....	31
1.3.1.1.3	Transmissão da informação entre os neurônios	32
1.3.1.2	Neurônio artificial.....	33
1.3.1.3	Funções de ativação	34
1.3.1.3.1	Função de etapa binária	34
1.3.1.3.2	Função linear.....	35
1.3.1.3.3	Sigmoide.....	36
1.3.1.3.4	Tangente hiperbólica (Tanh).....	37
1.3.1.3.5	Ativação linear retificada (ReLU)	38
1.3.1.3.6	Ativação linear retificada com vazamento (Leaky ReLU)	39
1.3.1.3.7	Softmax	40
1.3.1.4	Arquitetura das redes neurais	40
1.3.1.5	Algoritmo de aprendizagem propagação reversa (<i>backpropagation</i>)	41
1.3.1.6	Métricas para validação do modelo.....	42
1.3.1.6.1	Matriz de confusão	42
1.3.1.6.2	Curva característica de operação do receptor	43
1.3.1.6.3	Método de validação cruzada	44
2	OBJETIVO	45

2.1	Objetivo geral.....	46
2.2	Objetivos específicos	46
3	MATERIAIS E MÉTODOS	47
3.1	Espectros Raman	47
3.2	Classificação dos espectros	48
3.2.1	Redes neurais	48
3.2.2	Análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA)	49
3.3	ANOVA	50
4	RESULTADOS.....	51
4.1	Acurácia das redes neurais na classificação dos espectros	51
4.1.1	Diferenciação entre regiões de pele Não Tumoral e Tumoral.....	52
4.1.2	Diferenciação entre regiões de pele Normal, CBC, CEC, CERAT e BEN.....	55
4.1.3	Diferenciação entre regiões de pele tumorais: CBC, CEC, CERAT e BEN.....	59
4.2	ANOVA	63
4.3	Acurácia das redes neurais com pré-processamento via PCA e diagnóstico por PLS-DA	64
4.3.1	PCA	64
4.4	PLS-DA	68
5	DISCUSSÃO	69
6	CONCLUSÃO	72
7	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	73
	ANEXO A - Script base utilizado na criação das RNAs	81

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Diagrama esquemático de um espectrômetro Raman.....	17
Figura 2 – Onda eletromagnética	19
Figura 3 – Espectro eletromagnético.....	20
Figura 4 – Espalhamento da radiação eletromagnética: espalhamento inelástico (Stokes), espalhamento elástico (Rayleigh), espalhamento inelástico (anti-Stokes)	24
Figura 5 – Representação esquemática do neurônio biológico	30
Figura 6 – Esquema simplificado de neurônio artificial	34
Figura 7 – Função de ativação de etapa binária.....	35
Figura 8 – Função de ativação linear.....	36
Figura 9 – Função de ativação sigmóide.....	37
Figura 10 – Função de ativação tangente hiperbólica.....	38
Figura 11 – Função de ativação linear retificada.....	39
Figura 12 – Função de ativação linear retificada com vazamento.....	40
Figura 13 – Esquema de rede neural com quatro neurônios na camada de entrada, duas camadas ocultas com quatro neurônios cada e camada de saída com dois neurônios	41
Figura 14 – Exemplo de curva ROC com duas classes	44
Figura 15 – Método de validação cruzada <i>k-fold</i>	45
Figura 16 – Espectros médios dos grupos Normal, CBC, CEC, CERAT e BEN.....	48
Figura 17 – Diagrama da rede neural feedforward com algoritmo backpropagation com uma camada oculta, 10 neurônios e duas saídas	49
Figura 18 – Acurácia das 10 repetições da rede neural <i>feedforward</i> com <i>backpropagation</i> para avaliação da aleatoriedade da escolha dos grupos de treino, validação e teste	51
Figura 19 – Acurácia das redes de 1 a 7 para os dados de treino e teste na classificação entre regiões de pele Não Tumoral e Tumoral	53
Figura 20 – Curva ROC da rede neural 1 para os grupos Não Tumor e Tumor	55

Figura 21 – Acurácia das redes de 8 a 14 para os dados de treino e teste no diagnóstico entre tecidos Normal, CBC, CEC, CERAT e BEN	57
Figura 22 – Curva ROC da rede neural 8 para os grupos Normal, CBC, CEC, CERAT e BEN	59
Figura 23 – Acurácia das redes neurais 15 a 21 nos dados de treino e teste para classificação entre tipos de lesão CBC, CEC, CERAT e BEN.....	61
Figura 24 – Curva ROC da rede neural 15 para as categorias CBC, CEC, CERAT e BEN	63
Figura 25 – Pesos das bandas Raman na decisão das redes neurais	64
Figura 26 – Acurácia das redes neurais 22 a 28 sem PCA e com PCA como pré-processamento	66
Figura 27 – Tempo de processamento das redes neurais 22 a 28 sem PCA e com PCA	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Quantidade de espectros em cada uma das categorias analisadas	47
Tabela 2 – Redes neurais de 1 a 7 com respectivos números de camadas ocultas e neurônios por camada	52
Tabela 3 – Matriz de confusão da rede 1 com erros e acertos por grupo para classificação entre os grupos Não Tumoral e Tumoral	54
Tabela 4 – Redes neurais de 8 a 14 com respectivos números de camadas ocultas e neurônios por camada	56
Tabela 5 – Matriz de confusão da rede 8 com erros e acertos para classificação entre os grupos Normal, CBC, CEC, CERAT e BEN	58
Tabela 6 – Redes neurais de 15 a 21 com respectivos números de camadas ocultas e neurônios por camada	60
Tabela 7 – Matriz de confusão da rede 15 com erros e acertos para classificação entre os grupos CBC, CEC, CERAT e BEN	62
Tabela 8 – Redes neurais criadas para teste de desempenho da PCA aplicada como pré-processamento à classificação via RNA.....	65
Tabela 9 – Acurácia das RNAs com pré-processamento via PCA e apenas uma camada oculta	67
Tabela 10 – Comparação do desempenho entre a classificação via PLS-DA e via RNA das redes 1, 8 e 15	68
Tabela 11 – Estudos publicados de técnicas de aprendizado de máquina em conjunto a espectroscopia Raman para diagnóstico de câncer de pele.....	70

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA: análise de variância

BEN: benigno

CBC: carcinoma basocelular

CEC: carcinoma espinocelular

CERAT: ceratose actínica

CPNM: câncer de pele não melanoma

DA: (*discriminant analysis*) análise discriminante

FN: falso negativo

FP: falso positivo

ML: (*machine learning*) aprendizado de máquina

PCA: (*principal component analysis*) análise de componente principal

PLS: (*partial least squares*) mínimos quadrados parciais

RNA: redes neural artificial

ROC: (*receiver operating characteristic curve*) curva característica de operação do receptor

SI: Sistema Internacional de Unidades

VN: verdadeiro negativo

VP: verdadeiro positivo

1 INTRODUÇÃO

1.1 Câncer de pele

O câncer de pele é a neoplasia com maior incidência no Brasil e pode ser dividido em dois diferentes tipos: o melanoma e o câncer de pele não melanoma (CPNM). O primeiro é menos frequente, porém mais agressivo e com uma alta taxa de mortalidade. O segundo tipo corresponde a cerca de 30% de todos os tumores malignos do Brasil, porém se diagnosticado precocemente (*in situ*), seu tratamento possui alta taxa de sucesso (BOMFIM; GIOTTO; SILVA, 2018).

Os tipos mais comuns de CPNM são o carcinoma basocelular (CBC) e o carcinoma espinocelular (CEC), que juntos representam em torno de 95% dos CPNM. O CBC é caracterizado por proliferação de células que se assemelham às basais epidérmicas (células basaloides), e o CEC é caracterizado por proliferação atípica de células escamosas invasivas que podem sofrer metástase e apresentam um grande potencial de recorrência (BRANDT; MOORE, 2019; CIAŻYŃSKA *et al.*, 2021; DIDONA *et al.*, 2018). Além desses tipos de cânceres de pele não melanoma, a ceratose actínica (CERAT) é uma lesão pré-maligna de alta prevalência, com risco de evolução para CEC invasivo em cerca de 20 a 25% dos casos (REINEHR; BAKOS, 2019).

Além do diagnóstico precoce, sabe-se que quando o paciente apresenta CPNM pela primeira vez, as chances de aparecimento de um novo câncer de pele aumentam em 35% em três anos, e 50% no período de cinco anos após o diagnóstico inicial. Sendo assim, o acompanhamento destes indivíduos se torna fundamental para o sucesso do tratamento (ZINK, 2014).

O diagnóstico do câncer de pele não melanoma é realizado através do exame clínico e da biópsia para análise histopatológica (padrão ouro), que é um exame invasivo e que a retirada do fragmento para biópsia pode deixar cicatriz cirúrgica.

1.2 Espectroscopia Raman

As técnicas de espectroscopia vibracional obtêm informação dos níveis de energia vibracional das ligações químicas entre átomos em moléculas a partir da interação entre a radiação eletromagnética e a matéria. A informação obtida pelas técnicas é dada na forma de um espectro de intensidade (absorção ou espalhamento) *versus* comprimento de onda. Cada molécula possui um padrão único de bandas espectrais (“*fingerprint*”) que permitem a avaliação da composição molecular de uma determinada amostra sob análise (RODRIGUES; GALZERANI, 2012). Nesses espectros são apresentadas as transições (diferença de energia entre os níveis), e assim, a partir destas informações determinam-se as posições relativas dos níveis energéticos. No caso de moléculas, a região espectral onde estas transições são observadas depende do tipo de níveis envolvidos: eletrônicos, vibracionais ou rotacionais. Normalmente as transições eletrônicas estão situadas na região do ultravioleta ou visível, as vibracionais na região do infravermelho e as rotacionais na região de micro-ondas (em moléculas com átomos leves, também no infravermelho distante). As diferentes regiões espectrais exigem espectrômetros apropriados. Assim, cada tipo de espectroscopia tem uma tecnologia própria (SALA, 2008).

As principais técnicas espectroscópicas empregadas para detectar energia vibracional em moléculas baseiam-se nos processos de absorção da radiação no infravermelho próximo e espalhamento inelástico da radiação incidente (espalhamento Raman). São amplamente usadas para fornecer informações sobre estruturas químicas, identificar substâncias a partir dos padrões espectrais característicos e determinar quantitativa ou semiquantitativamente a proporção de uma substância em uma amostra. As amostras podem ser examinadas em uma ampla gama de estados, como por exemplo, sólidos, líquidos ou vapores, como partículas microscópicas ou camadas superficiais. As técnicas fornecem soluções para uma série de problemas analíticos.

A espectroscopia Raman é baseada no espalhamento Raman e possui como vantagem permitir o estudo de substâncias em solução aquosa (a água

tem espalhamento Raman fraco), através de recipientes de vidro e mesmo em amostras sem qualquer preparação química prévia, além da possibilidade de se poder fazer a amostragem à distância, com emprego de fibras ópticas (SALA, 2008). Todos estes fatores levaram a um rápido crescimento na aplicação dessa técnica para o diagnóstico de diversas patologias na área médica (SOUZA *et al.*, 2003).

O desenvolvimento atual de instrumentos Raman permite a obtenção de espectros rapidamente e com pouca complexidade experimental. Os parâmetros variáveis do instrumento são poucos (autofoco, tempo de leitura otimizado), a manipulação espectral é mínima (remoção automática de linha de base e ruídos), porém a interpretação dos dados (comparação com bancos de dados) e processamento visando classificação (agrupamento, análise discriminante) pode ser insuficiente devido às características de fraco sinal proveniente de amostras biológicas e sobreposição de bandas de diferentes compostos presentes na amostra (SMITH; DENT, 2019).

O sistema Raman típico consiste em uma fonte de laser, um sistema de coleta de luz, um seletor de comprimento de onda (**Monocromador**) e um detector (WANG *et al.*, 2015), conforme apresentado na Figura 1.

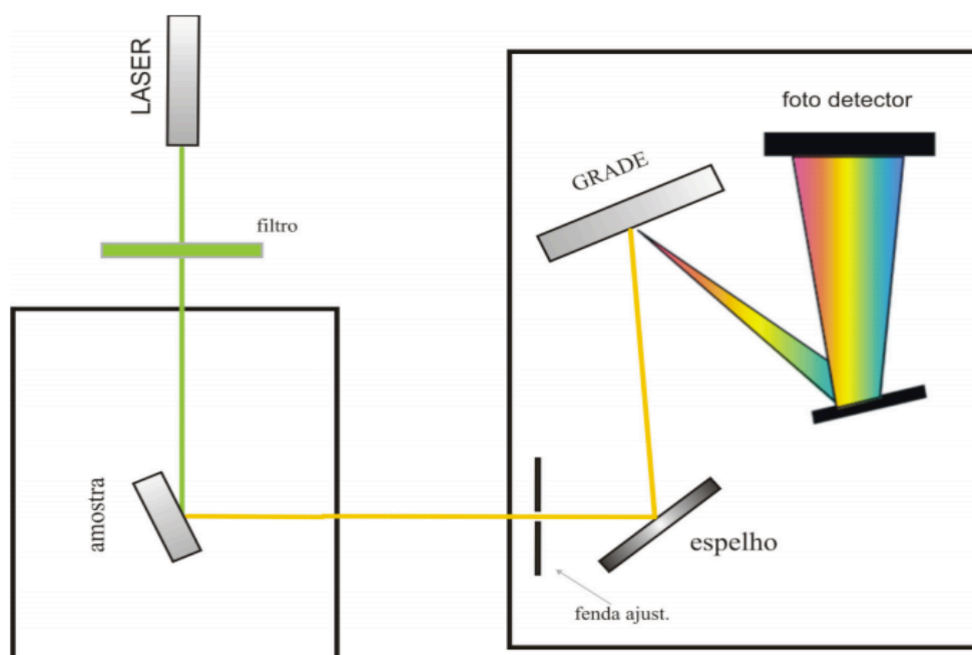


Figura 1– Diagrama esquemático de um espectrômetro Raman.

Um espectro Raman pode ser dividido em duas partes: o sinal, que contém a informação desejada, e o ruído, inerente à medição, que representa a radiação indesejada e não dá nenhuma informação sobre a amostra. Esses ruídos inevitavelmente contaminam os espectros coletados e introduzem ambiguidade nos valores de correlação (SANTOS *et al.*, 2020).

Normalmente a identificação de uma substância desconhecida pela técnica de espectroscopia Raman é baseada na comparação entre o espectro obtido da amostra analisada e um espectro armazenado em um banco de dados denominado espectro padrão. Esse tipo de análise pode ser um processo lento, impreciso e muitas vezes subjetivo. A extração de dados quantitativos dos espectros, portanto, requer uma referência. Ter um controle apropriado é essencial para a discriminação confiável destes.

1.2.1 Histórico do espalhamento Raman

O fenômeno de espalhamento inelástico de luz foi postulado pela primeira vez por Smekal em 1923 (CHALMERS; GRIFFITHS, 2001) e observado experimentalmente em 1928 por Raman e Krishnan (DRESSELHAUS *et al.*, 1999). Desde então, o fenômeno é conhecido como espectroscopia Raman. No experimento original, a luz do sol foi focalizada por um telescópio em uma amostra de um líquido purificado ou um vapor livre de poeira. Uma segunda lente foi colocada pela amostra para coletar a radiação espalhada. Um sistema de filtros ópticos foi usado para mostrar a existência de radiação espalhada com uma frequência alterada da luz incidente, característica básica da espectroscopia Raman.

1.2.2 Espalhamento da radiação

1.2.2.1 Radiação eletromagnética

As ondas eletromagnéticas são uma combinação de campo magnético e campo elétrico perpendiculares entre si que se propagam tanto pelo vácuo quanto em diversos materiais, conforme mostrado na Figura 2.

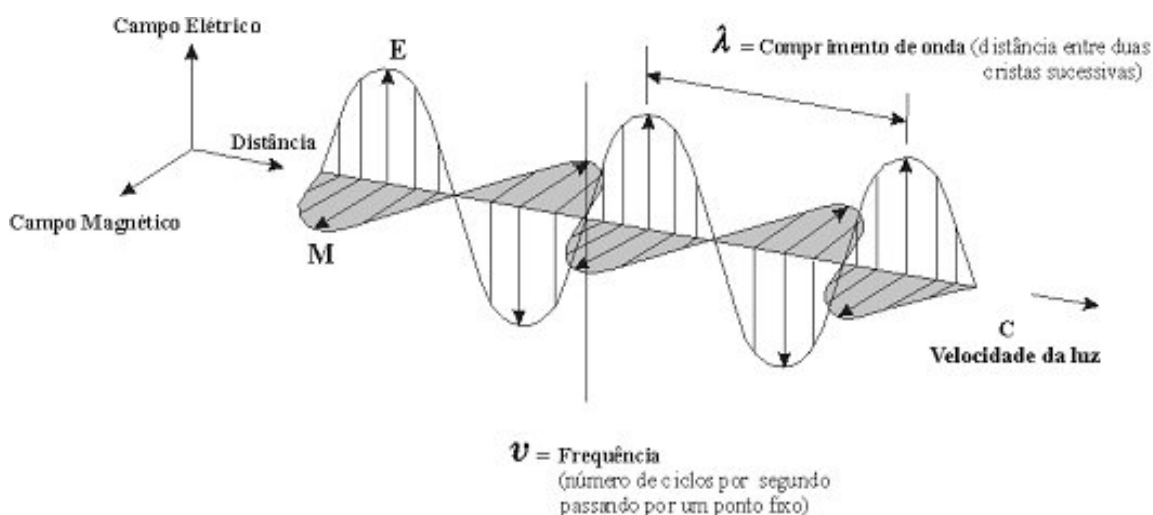


Figura 2 – Onda eletromagnética.

Fonte: Mundo Educação (SILVA, 2018).

As ondas eletromagnéticas podem ser caracterizadas pela sua frequência, velocidade e comprimento de onda.

- Frequência (f): número de oscilações que seus campos realizam por segundo. No Sistema Internacional de Unidades (SI) ela é apresentada em Hz. A frequência não é alterada durante a propagação das ondas, mesmo que atravesse diferentes meios.

- Velocidade (v): depende do meio em que a onda se propaga e possui unidade SI o m/s. No caso das ondas eletromagnéticas, elas se propagam no vácuo na velocidade da luz (c) que é de aproximadamente 3×10^8 m/s.

- Comprimento de onda (λ): a distância entre dois pontos consecutivos em um padrão de onda senoidal, cuja unidade no SI é o m (RODRIGUES; GALZERANI, 2012).

Essas grandezas se relacionam através da equação da velocidade de propagação da onda (1):

$$v = \lambda \cdot f \quad (1)$$

Por meio da relação apresentada, quanto maior for a frequência da onda eletromagnética, menor será o seu comprimento de onda.

De acordo com a frequência e o comprimento de onda pode-se definir um espectro eletromagnético com múltiplas faixas que vai desde as ondas de rádio até os raios gama (Figura 3). A luz é uma onda eletromagnética cuja frequência encontra-se no espectro visível.

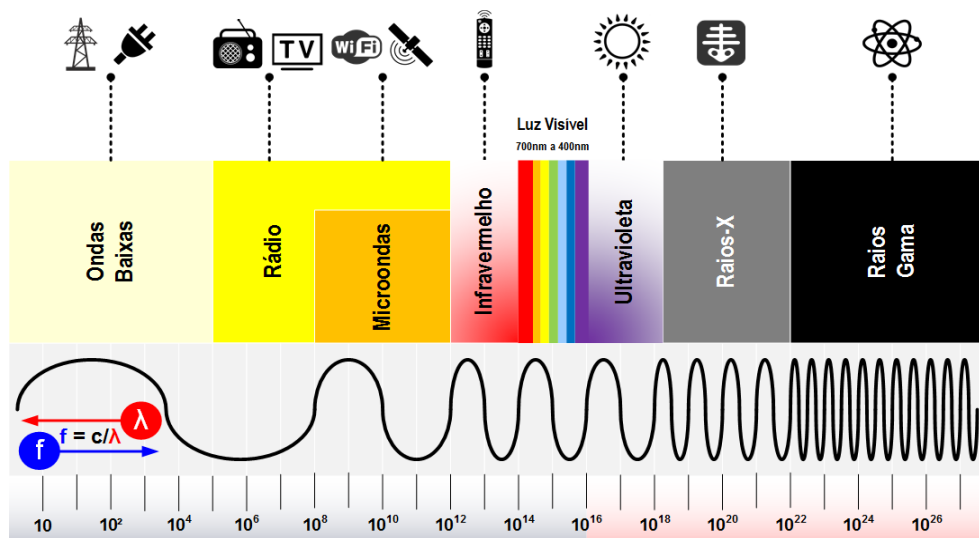


Figura 3 – Espectro eletromagnético.

Fonte: Medium (UBNT, 2003).

Pode-se também caracterizar a onda eletromagnética pela sua energia de fóton (E). Um fóton pode ser definido como um pequeno pacote que transporta a energia proveniente das ondas eletromagnéticas. Essa energia pode ser calculada através da Equação (2), onde f é a frequência da onda e h é a constante de Planck ($\sim 6,626 \times 10^{-34}$ J.s).

$$E = h \cdot f \quad (2)$$

A interação da radiação eletromagnética com a matéria é a base das técnicas de espectroscopia.

1.2.2.2 Interação da radiação eletromagnética com a matéria

Quando a luz interage com a matéria, os fótons que a constituem podem ser absorvidos ou espalhados, ou então podem não interagir com o material e passar direto por ele. Se a energia de um fóton incidente corresponde à lacuna de energia entre o estado fundamental de uma molécula e um estado excitado, o fóton pode ser absorvido e a molécula promovida para o estado excitado de energia mais alta. É essa mudança que é medida na espectroscopia de absorção pela detecção da perda dessa energia de radiação da luz. No entanto, também é possível que o fóton interaja com a molécula e se espalhe a partir dela. Nesse caso, não há necessidade de o fóton ter uma energia que corresponda à diferença entre dois níveis de energia da molécula.

Os fótons espalhados podem ser observados pela coleta de luz em um ângulo em relação ao feixe de luz incidente e, desde que não haja absorção de quaisquer transições eletrônicas que tenham energias semelhantes às da luz incidente, a eficiência aumenta conforme a potência da luz incidente.

O espalhamento é uma técnica comumente usada. Por exemplo, é amplamente utilizado para medir o tamanho de partícula e distribuição em

tamanhos menores que 1 mm. No entanto, a principal técnica de espalhamento usada para identificação molecular é o espalhamento Raman.

O processo de absorção é usado em uma ampla gama de técnicas espectroscópicas. Por exemplo, é usado em espectroscopia acústica onde há uma diferença de energia muito pequena entre os estados fundamental e excitado e em espectroscopia de absorção de raios X onde há uma diferença muito grande. Entre esses extremos estão muitas das técnicas comuns, como a espectroscopia por ressonância magnética nuclear (NMR), espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (EPR), absorção no infravermelho, absorção eletrônica e emissão de fluorescência e espectroscopia ultravioleta (UV) de vácuo.

A radiação é frequentemente caracterizada por seu comprimento de onda. Entretanto, na espectroscopia, o interesse está na interação da radiação com os estados da molécula que está sendo examinada e isso sendo geralmente discutido em termos de energia, muitas vezes é útil usar escalas de frequência (f) ou número de onda ($\bar{\nu}$), que estão linearmente relacionados com a energia. As relações entre essas escalas são fornecidas pela Equação (3):

$$\bar{\nu} = \frac{f}{c} = \frac{1}{\lambda} \quad (3)$$

A espectroscopia Raman usa uma única frequência de radiação para irradiar a amostra e é a radiação espalhada da molécula, uma unidade vibracional de energia diferente do feixe incidente, que é detectada. Assim, ao contrário da absorção infravermelha, o espalhamento Raman não requer o casamento da radiação incidente com a diferença de energia entre o solo e os estados excitados. No espalhamento Raman, a luz interage com a molécula e distorce (polariza) a nuvem de elétrons ao redor dos núcleos para formar um estado de vida curta chamado de “estado virtual”. Este estado não é estável e o fóton é irradiado rapidamente.

As mudanças de energia que são detectadas na espectroscopia vibracional são aquelas necessárias para causar o movimento nuclear. Se

apenas a distorção da nuvem de elétrons estiver envolvida no espalhamento, os fótons serão espalhados com mudanças de frequência muito pequenas, já que os elétrons são comparativamente leves. Este processo de espalhamento é considerado como espalhamento elástico e é o processo dominante. Para as moléculas, é denominado espalhamento Rayleigh. No entanto, se for induzido o movimento nuclear durante o processo de espalhamento, a energia será transferida do fóton incidente para a molécula ou da molécula para o fóton espalhado. Nestes casos, o processo é inelástico e a energia do fóton espalhado é diferente daquela do fóton incidente por uma unidade vibracional. Esta é o espalhamento Raman. É um processo inerentemente fraco, pois apenas uma pequena fração dos fótons que se espalham é espalhado na forma Raman. Por si só, isso não torna o processo insensível, pois com lasers e microscópios modernos, densidades de potência muito altas podem ser fornecidas a amostras muito pequenas, mas segue-se que outros processos podem ocorrer prontamente, como degradação de amostra e fluorescência.

Em temperatura ambiente, a maioria das moléculas, mas não todas, estão presentes no nível vibracional de energia mais baixo. Como os estados virtuais não são estados reais da molécula, mas são criados quando o laser interage com os elétrons e causa polarização, a energia desses estados é determinada pela frequência da fonte de luz usada. O processo de espalhamento Rayleigh é o processo mais intenso, pois a maioria dos fótons se dispersa dessa forma. Não envolve nenhuma mudança de energia e conseqüentemente a luz retorna ao mesmo estado de energia. O processo de espalhamento Raman do estado vibracional básico (m) leva à absorção de energia pela molécula e sua promoção a um estado vibracional excitado de energia mais elevada (n), sendo chamado de espalhamento Stokes. No entanto, devido à energia térmica, algumas moléculas podem estar presentes em um estado excitado, como n na Figura 4. O espalhamento desses estados para o estado fundamental m é chamado de espalhamento anti-Stokes e envolve a transferência de energia para o fóton espalhado. As intensidades relativas dos dois processos dependem da população dos vários estados da molécula. As populações podem ser calculadas a partir da equação de Boltzmann, mas em temperatura ambiente, o número de

moléculas que se espera que estejam em um estado vibracional excitado diferente de qualquer um de energia realmente baixa será pequeno.

Em comparação com o espalhamento Stokes, o espalhamento anti-Stokes será fraco e se tornará mais fraco conforme a frequência da vibração aumenta, devido à diminuição da população dos estados vibracionais excitados. Além disso, o espalhamento anti-Stokes aumentará em relação ao espalhamento de Stokes conforme a temperatura aumenta.

Normalmente, o espalhamento Raman é registrado apenas no lado de baixa energia para gerar o espalhamento Stokes, mas ocasionalmente o espalhamento anti-Stokes é preferido. Por exemplo, onde houver interferência de fluorescência, isso ocorrerá com uma energia menor do que a frequência de excitação e, conseqüentemente, o espalhamento anti-Stokes pode ser usado para evitar interferência. A diferença nas intensidades das bandas Raman no espalhamento Stokes e anti-Stokes também pode ser usada para medir a temperatura.

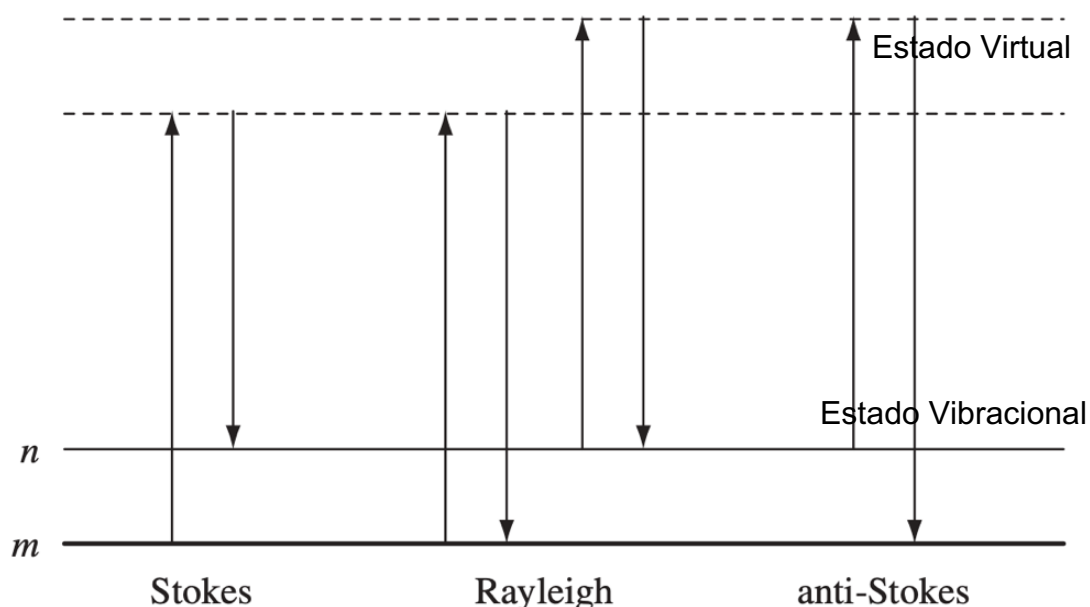


Figura 4 – Espalhamento da radiação eletromagnética: espalhamento inelástico (Stokes), espalhamento elástico (Rayleigh), espalhamento inelástico (anti-Stokes).

1.2.3 Aplicações da espectroscopia Raman

A espectroscopia Raman vem se mostrando uma ferramenta de grande utilidade em diversas áreas como a farmacêutica, controle de qualidade e no diagnóstico de patologias.

Na área farmacêutica pode-se destacar a identificação química de compostos, controle de qualidade e identificação de matéria-prima falsificada (PAUDEL; RAIJADA; RANTANEN, 2015). Além disso, a espectroscopia Raman já é comumente utilizada para detecção de drogas em amostras (PENIDO *et al.*, 2016).

Na área de diagnóstico, a espectroscopia Raman vem se sobressaindo principalmente no diagnóstico de diversos cânceres. Li *et al.* (2014) utilizaram um espectrofotômetro portátil para detecção de câncer de mama. Em Lin *et al.* (2021), o espalhamento Raman aprimorado por superfície (SERS) foi utilizado para detecção de câncer de mama em proteína sérica de 30 pacientes com câncer de mama e 45 voluntárias saudáveis. Lyng *et al.* (2015) concluíram em seu estudo sobre diagnóstico de câncer de colo do útero que a principal vantagem das técnicas de espectroscopia é que a técnica é objetiva diminuindo os erros de diagnóstico resultantes de variações na interpretação humana subjetiva. Bahreini *et al.* (2019) utilizaram a espectroscopia Raman na diferenciação de indivíduos saudáveis e com câncer gástrico, relatando que a espectroscopia Raman é uma ferramenta potencial para análise em tempo real. Correia *et al.* (2020) analisaram amostras de soro com valores de PSA normais e alterados através da espectroscopia Raman no intuito de identificar presença de câncer de próstata. Aguiar *et al.* (2020) demonstraram que a espectroscopia Raman pode ser uma ferramenta capaz de diferenciar concentrações de compostos bioquímicos presentes em tecidos cerebrais normais e tumorais e realizar a discriminação entre os diferentes tipos de tumores cerebrais *versus* tecido normal.

No diagnóstico de câncer de pele, Feng *et al.* (2018) buscaram marcadores que ajudassem no diagnóstico de câncer de pele melanoma. Ruiz

et al. (2022) avaliaram o uso da espectroscopia Raman juntamente a análise multivariada na classificação de melanoma múltiplo. Para isso, os autores se basearam na análise quantitativa da eumelanina, considerado um biomarcador tumoral. Concluíram que a técnica é um grande avanço em relação à técnica atualmente utilizada (cromatografia líquida de alto desempenho), que é invasiva. Lima *et al.* (2019) utilizaram a espectroscopia Raman para discriminação de câncer de pele não melanoma em tecido de pele *in vivo* e *ex vivo*.

1.3 Aprendizagem de máquina

A aprendizagem de máquina (*machine learning* – ML) é um ramo da área de inteligência artificial que possui como objetivo a criação de códigos capazes de observar e aprender padrões e tomar decisões utilizando-se de dados observacionais com o mínimo de interferência humana. Ela fornece ao computador a habilidade de aprender uma determinada tarefa sem ser explicitamente programada. O cérebro humano aprende a identificar um objeto ao ser exposto a este objeto diversas vezes, assim consegue identificar padrões que o caracteriza. Um modelo de aprendizagem de máquina, por sua vez, é exposto a um conjunto de dados e utiliza os exemplos ali contidos para identificar padrões relevantes à tarefa que lhe é destinado (HOMEM, 2020).

As técnicas de ML são orientadas a dados, isto é, aprendem automaticamente a partir de grandes volumes de dados. Os algoritmos de ML geram hipóteses a partir dos dados (MOHRI; ROSTAMIZADEH; TALWALKAR, 2018).

Um dos principais métodos utilizados para prover novo conhecimento e prever ocorrências futuras nos modelos de ML é a inferência indutiva. Este método parte do princípio da observação, para somente depois elaborar uma teoria. As etapas seriam: coleta de informações, organização dos dados, formulação de hipóteses e comprovação das hipóteses através de testes. Quanto maior a quantidade e qualidades dos dados, maiores as chances de generalização do modelo.

Existem três tipos principais de aprendizado de máquina: supervisionado, não supervisionado e por reforço.

- **Aprendizado supervisionado:** A cada amostra inserida na entrada do algoritmo de aprendizagem, uma resposta pretendida também é necessária ser apresentada, ou seja, é indispensável uma etiqueta instruindo a qual grupo a amostra pertence. Cada exemplo é descrito por um vetor de valores (atributos) e pela etiqueta do grupo associado. Este algoritmo tem por objetivo construir um categorizador que consiga diferenciar novas amostras ainda não categorizadas. Para etiquetas de valores discretos, esse problema é chamado de classificação e para valores contínuos, como regressão. Esse método de aprendizado é o mais utilizado.

- **Aprendizado não supervisionado:** as amostras são inseridas no algoritmo sem uma etiqueta dizendo a qual grupo pertence, assim o algoritmo reúne as amostras de acordo com suas semelhanças. O modelo de aprendizado não supervisionado compara as amostras verificando se podem ser agrupados formando-se os grupos (*clusters*). Como os grupos não possuem etiquetas, é necessário que após suas formações seja feita uma análise mais profunda para determinar o que cada um dos grupos pode significar na conjuntura da situação que está sendo analisada (VERGARA, 2004).

- **Aprendizado por reforço:** o algoritmo não recebe a solução do problema analisado, ele utiliza-se da tentativa e erro para encontrar a solução (RABELO *et al.*, 2018). No aprendizado por reforço não existem respostas para as entradas no processo de treinamento. O algoritmo recebe uma recompensa ou punição a cada tentativa sempre procurando maximizar o resultado. Esse tipo de aprendizado é utilizado geralmente em sistemas robóticos.

O aprendizado de máquina pode ser utilizado na resolução de diversos problemas, podendo ser citados:

- **Classificação:** utiliza-se este tipo de tarefa na intenção de atribuir uma categoria a cada item. Comumente empregada no reconhecimento de imagens, pode ser estendida a diversos outros tipos de classificações, como documentos, reconhecimento de fala, identificação de texto e diagnóstico médico, sendo neste

último exemplo extremamente útil na diferenciação de patologias e discriminação entre saudáveis e não saudáveis.

- *Regressão*: a regressão é empregada a fim de se prever um valor real a cada item. Esta técnica é amplamente empregada na análise de variáveis econômicas e na epidemiologia, no intuito de se estudar a frequência, distribuição e determinantes de diversos problemas na população. Na regressão, a penalidade para uma previsão incorreta depende da magnitude da diferença entre os valores verdadeiros e previstos, diferentemente dos problemas de classificação, onde normalmente não se sabe a proximidade entre as diversas categorias.

- *Ranking*: é o problema de aprender a ordenar os itens de acordo com algum critério. A pesquisa na *web*, por exemplo, retornar páginas da *web* relevantes para uma consulta de pesquisa, é o exemplo de classificação canônica. Muitos outros problemas semelhantes surgem no contexto do projeto de extração de informações ou sistemas de processamento de linguagem natural.

- *Clustering* (agrupamento): é o problema de particionar um conjunto de itens em subconjuntos homogêneos. O *clustering* é frequentemente usado para analisar conjuntos de dados muito grandes. Por exemplo, no contexto da análise da área de saúde, os algoritmos de agrupamento tentam identificar comunidades naturais dentro de grandes grupos de pacientes sem informações iniciais sobre estes.

- *Redução da dimensionalidade ou aprendizado múltiplo*: este problema consiste em transformar uma representação inicial de itens em uma representação de dimensão inferior preservando algumas propriedades da representação inicial. Um exemplo comum envolve o pré-processamento de imagens digitais em tarefas de visão computacional (MOHRI; ROSTAMIZADEH; TALWALKAR, 2018).

1.3.1 Redes neurais

A simulação cognitiva tem o intuito de reproduzir as estruturas e os mecanismos de raciocínio utilizados pelos operadores na realização de suas atribuições. Ela permite que as funções de um operador humano e uma máquina sejam integrados (sistema homem-máquina) e se tornem seguros (VERGARA, 2004). Para essa simulação, técnicas de inteligência artificial são normalmente usadas, e entre elas está a rede neural artificial (RNA). A construção das RNAs tem inspiração no sistema nervoso e neurônios biológicos.

1.3.1.1 Fundamentos biológicos

1.3.1.1.1 Neurônio

No cérebro são encontrados dois tipos predominantes de células, os neurônios e as células da glia. As células da glia não geram impulsos nervosos e não formam sinapses, sendo assim, as principais funções cerebrais normalmente são atribuídas aos neurônios. Na literatura especializada é citado que o cérebro possui em média 85 bilhões de neurônios que podem ser de diversos tipos (HERCULANO-HOUZEL, 2009). O neurônio tem um corpo chamado soma, diversas ramificações conhecidas como dendritos que conduzem sinais de suas extremidades para o corpo celular, e o axônio, normalmente um prolongamento único especializado na condução de impulsos, os quais transmitem informações do neurônio para outras células. A Figura 5 mostra uma representação esquemática de um neurônio biológico com seus componentes básicos.

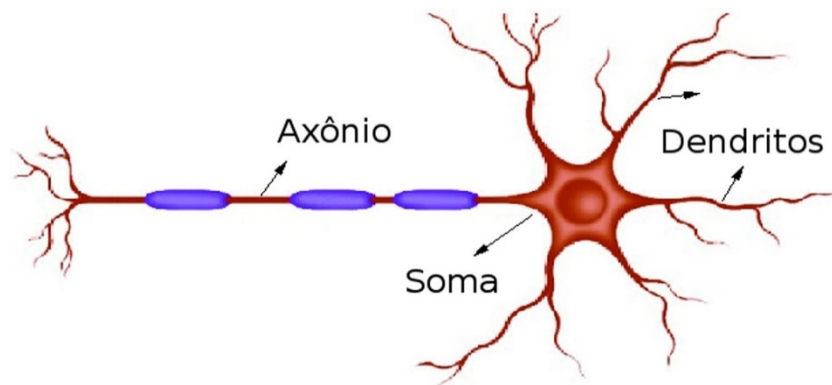


Figura 5 – Representação esquemática do neurônio biológico.

Fonte: Borges *et al.* (1998).

As extremidades do axônio são interligadas com os dendritos de outros neurônios pelas sinapses, porém em alguns casos é possível que eles se liguem a outros axônios ou até mesmo com o corpo de outro neurônio.

A sinapse é a região de junção em que uma célula influencia diretamente outra célula através da transmissão de um sinal elétrico ou químico. Tem papel primordial na memorização da informação sendo o córtex cerebral e as partes mais profundas do cérebro responsáveis pelo armazenamento dessa informação. As sinapses químicas são encontradas em maior número, sendo necessária a liberação de neurotransmissores (LOPES *et al.*, 1999). Os neurotransmissores são sintetizados pelos próprios neurônios e armazenados dentro de vesículas. Essas vesículas encontram-se no terminal axônico, e quando os impulsos nervosos chegam a esses terminais, os neurotransmissores são liberados. Cada vez que uma sinapse é ativada ou consegue ativar um neurônio, o volume de neurotransmissores liberados aumenta na próxima ativação deste neurônio, sendo assim, quanto mais vezes a conexão for ativada, maior a comunicação entre eles. Esse sistema foi o impulso para a Lei de Hebb, a qual afirma que se dois neurônios estão ativos ao mesmo tempo, suas conexões são fortalecidas (HAASE; LACERDA, 2004). A Lei de Hebb é a base de muitos algoritmos das RNAs.

1.3.1.1.2 Potencial de ação

Existem dentro e fora das células concentrações diferentes de íons sódio (Na^+) e potássio (K^-) que provocam um ponto de equilíbrio de -85 mV, sendo o interior da célula negativo com relação ao exterior. Quando ocorrem perturbações na membrana do neurônio, diversas modificações acontecem durante uma fração de tempo e o potencial de ação torna-se positivo durante esta fração. Essa modificação da tensão do estado negativo para positivo é conhecida como potencial de ação.

A geração de um potencial de ação pode ser causada por diversos estímulos (elétrico, químicos, temperatura, entre outros). Esses estímulos têm como efeito a modificação das propriedades dielétricas da membrana, especialmente na permeabilidade dos íons de Na^+ e K^- que, ao serem ampliadas, permitem a difusão destes íons através da membrana. Após um intervalo de tempo, uma nova fase tem início: a repolarização. Durante a repolarização, devido a mecanismos de transporte ativo (transporte de substâncias através da membrana contra o gradiente de concentração, mediado por proteínas específicas transportadoras e com utilização de energia celular), a membrana tende a retornar a seu estado normal e em seguida inicia-se o período refratário, onde a membrana apresenta-se insensível a outras perturbações (MOREIRA, 2015).

O período refratário assegura que um potencial de ação vai ser propagado em sentido único (em direção ao axônio), e não em sentido contrário na porção do axônio que acabou de realizar o potencial de ação. Existem dois tipos de período refratário: o absoluto e o relativo. No primeiro tipo, os canais de Na^+ estão em estado inativo, sendo assim os estímulos são incapazes de gerar um potencial de ação. Já no segundo tipo, alguns canais de Na^+ estarão de volta ao repouso ativável, mas a maioria ainda estará inativo (KRUEGER-BECK *et al.*, 2011). Durante o período refratário, o potencial de ação tem por efeito a liberação de moléculas de neurotransmissores. Estes neurotransmissores liberados se difundem na lacuna entre os neurônios, indo assim se juntar a membrana do

neurônio seguinte, provocando sua perturbação e conseqüentemente propagando o fenômeno.

1.3.1.1.3 Transmissão da informação entre os neurônios

O potencial de ação se propaga pelo axônio até chegar a uma de suas terminações. Neste local ele provoca modificações na membrana destas terminações, as sinapses. Isto permite a liberação de moléculas de diversos tipos, comumente denominado de neurotransmissores. Os neurotransmissores se difundem no espaço entre o terminal do axônio e um outro neurônio, geralmente o terminal do dendrito. Suas moléculas ao se unirem ao dendrito provocam modificações na membrana deste que acaba, por algumas vezes, provocando um potencial de ação, outras vezes, dificultando seu aparecimento, este potencial de ação, se criado, se propagará até a soma do neurônio que recebeu o sinal alterando sua frequência de disparo. Pode-se dizer que a transmissão de informações entre neurônios depende do tipo de neurotransmissor e de sua abundância no terminal sináptico e da sensibilidade da membrana do dendrito a excitação, modificando assim, a intensidade com que um neurônio é capaz de excitar (ou inibir) um outro neurônio. O comportamento da rede de neurônios é alterado sempre que os valores dessas conexões (pesos) são modificados. As mudanças de comportamento representam um aprendizado de rede.

Cada região do cérebro é especializada em uma determinada função, como processamento de sinais auditivos, sonoros, elaboração de pensamentos, desejos e outras. Esse processamento se dá através de redes particulares interligadas entre si, realizando processamento paralelo. Cada uma dessas regiões do cérebro possui uma arquitetura de rede diferente: varia o número de neurônios, de sinapses por neurônio, valor dos limiares e dos pesos. Os valores dos pesos são estabelecidos por meio de treinamento recebido pelo cérebro durante a vida útil (memorização).

Como o comportamento de uma rede neural depende diretamente dos valores de suas conexões sinápticas, o estudo de redes neurais também pode ser chamado de Conexionismo (BARRETO, 2002).

1.3.1.2 Neurônio artificial

Inspirado no neurônio biológico, foi desenvolvido um modelo de neurônio artificial que é a base da inteligência artificial (IA), no intuito de reproduzir a inteligência humana. Seguem a premissa de que sinais elétricos são gerados por sensores e estes são recebidos pelos dendritos, sendo ponderados e enviados para o axônio, podendo ou não seguir adiante. Na passagem pelo neurônio, um sinal pode ser amplificado ou atenuado, dependendo do dendrito de origem, pois a cada condutor está associado um peso pelo qual o sinal é multiplicado.

Uma RNA é composta por uma estrutura com diversas conexões onde pequenas unidades densamente interligadas são responsáveis pelo processamento das informações, tentando imitar as propriedades cognitivas dos sistemas biológicos. Essas unidades, os neurônios (Figura 6), processam os dados isolada e paralelamente, após isso, enviam o resultado para outro neurônio através das conexões entre eles (JAIN; MAO; MOHIUDDIN, 1996; SILVA; SPATTI; FLAUZINO, 2010).

Basicamente, o neurônio recebe os sinais de entrada (x_1, x_2, \dots, x_m). Dentro destes sinais, alguns excitarão mais e outros menos o neurônio receptor e o quanto estes estímulos podem excitar, é representado pelos pesos sinápticos. Os pesos sinápticos, ou simplesmente pesos (w), estabelecem o grau de importância de que determinada entrada possui. Na Figura 6, o índice w_{jm} representa os pesos sinápticos, onde j representa o índice do neurônio e m representa o terminal de entrada da sinapse a qual o peso se refere. Após isso, é aplicado um somatório dos estímulos (entrada multiplicada pelo seu peso sináptico) e, posteriormente, é obtida uma função de ativação que será definida com base nas entradas e pesos qual será a saída do neurônio. No modelo do neurônio artificial também é adicionado um limiar ou *bias* (b), no intuito de ajustar

a saída junto à soma ponderada das entradas do neurônio. Este é uma constante que ajuda o modelo a se adaptar melhor aos dados fornecidos.

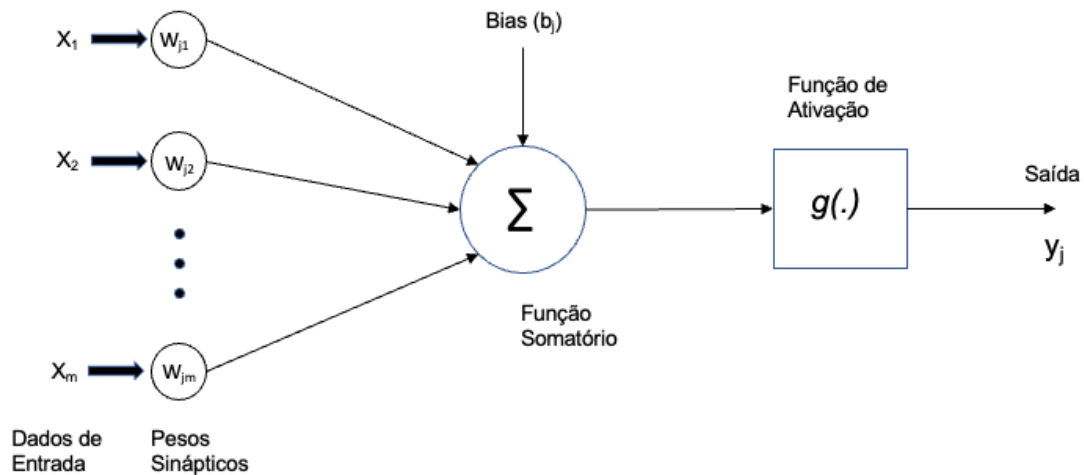


Figura 6 – Esquema simplificado de um neurônio artificial.

1.3.1.3 Funções de ativação

As funções de ativação são fundamentais para as RNAs pois elas quem decidem se um neurônio será ativado ou não, limitam a amplitude de saída e possuem a capacidade de fazer a transformação não linear dos dados de entrada (GOMES, 2010).

1.3.1.3.1 Função de etapa binária

A função de etapa binária representada na Equação (4) é utilizada como um classificador binário para uma única classe. Esta função simplesmente ativa ou não ativa o neurônio (Figura 7).

$$\begin{aligned} f(x) &= 1, x \geq 0 \\ f(x) &= 0, x < 0 \end{aligned} \tag{4}$$

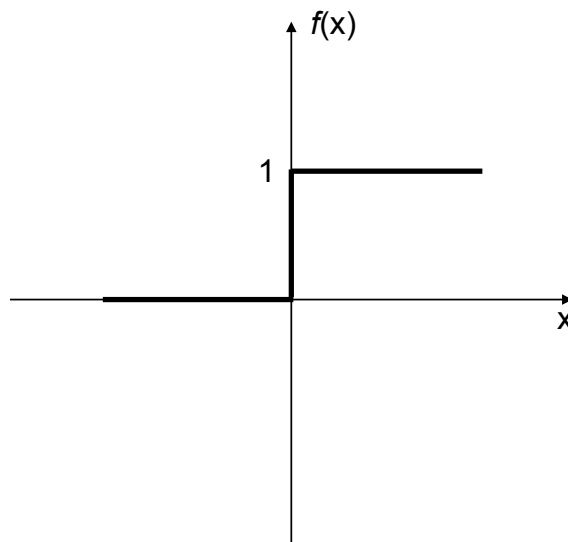


Figura 7 – Função de ativação de etapa binária.

1.3.1.3.2 Função linear

A função linear representada na Equação (5) é utilizada apenas na camada de saída e pode ser empregada para problemas de regressão. Esta função recebe a entrada, multiplica-a pelo peso do neurônio e emite uma saída com o valor proporcional recebido. Ao contrário da função de etapa binária, essa função permite saídas com valores além de 0 e 1 (Figura 8).

$$f(x) = ax \tag{5}$$

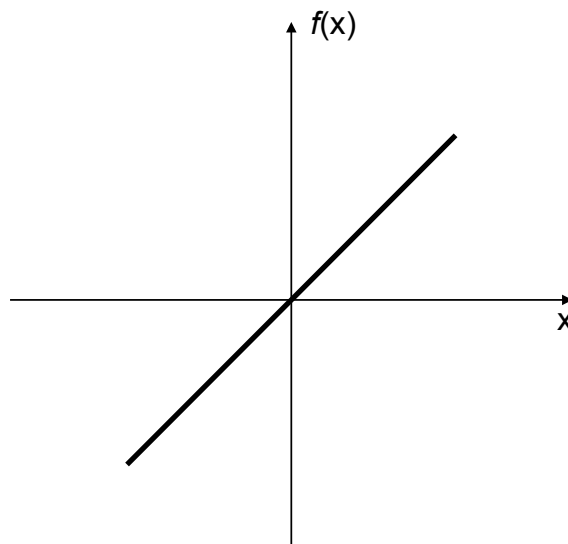


Figura 8 – Função de ativação linear.

1.3.1.3.3 Sigmoide

Esta função é do tipo não linear amplamente utilizada na predição de fenômenos [Equação (6)]. Possui como grande vantagem o fato de que a saída também será não linear mesmo com diversas camadas de neurônios, assumindo valores no intervalo contínuo entre 0 e 1 (Figura 9). Como desvantagem, esta função de ativação pode ser lenta para valores muito grandes ou muito pequenos, pois devido ao fato de se utilizar o gradiente descendente para obtenção do menor erro para o modelo e este utilizar-se de derivadas, quando o gradiente se aproxima de 0 a rede pode aprender mais lentamente.

$$f(x) = \frac{1}{1 + e^{-x}} \quad (6)$$

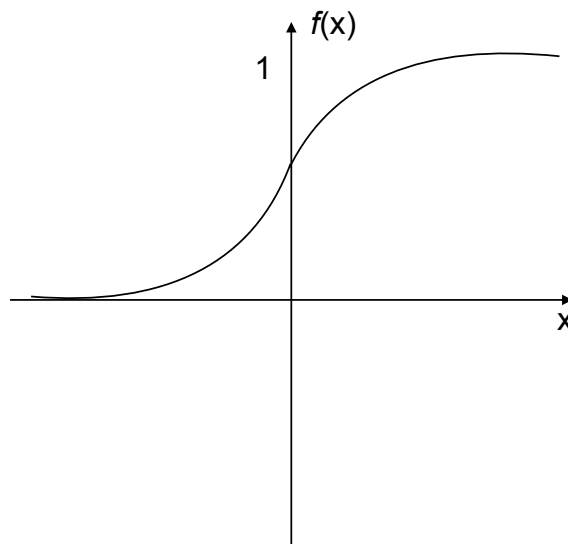


Figura 9 – Função de ativação sigmóide.

1.3.1.3.4 Tangente hiperbólica (Tanh)

A função tanh apresentada na Equação (7) é uma versão escalonada da função sigmoide. Esta função funciona de forma semelhante, porém sendo simétrica em relação à origem, assumindo valores entre -1 e 1 (Figura 10). Apresenta um aprendizado mais rápido que a função sigmoide, porém não é utilizada na camada final por apresentar um range maior.

$$\tanh(x) = \frac{2}{1 + e^{-2x} - 1} \quad (7)$$

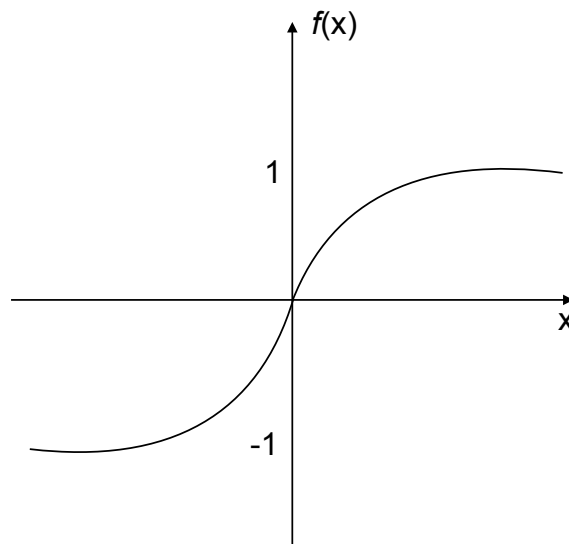


Figura 10 – Função de ativação tangente hiperbólica.

1.3.1.3.5 Ativação linear retificada (ReLU)

A função ReLU representada na equação (8) é uma das funções mais utilizadas nas camadas ocultas. É uma função não linear, sendo assim é possível copiar os erros para trás. Possui como grande vantagem a não saturação do gradiente descendente, além de não ativar todos os neurônios ao mesmo tempo, diminuindo assim o custo computacional. Não é recomendável a utilização na última camada por não restringir os valores de saída (produz resultados entre 0 e ∞).

$$f(x) = \max(0, x) \quad (8)$$

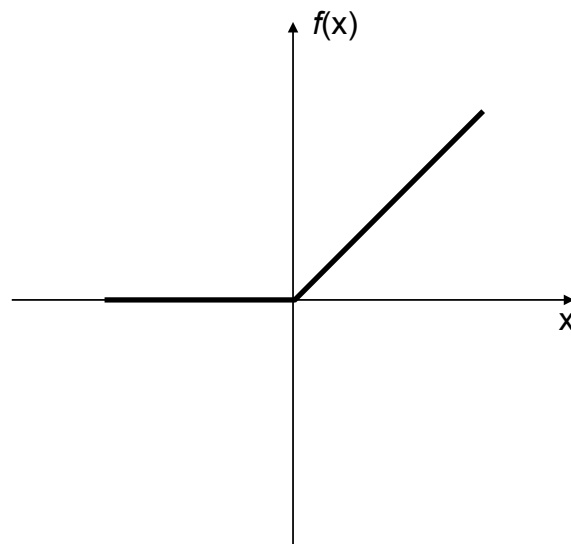


Figura 11 – Função de ativação linear retificada.

1.3.1.3.6 Ativação linear retificada com vazamento (Leaky ReLU)

A função Leaky ReLU [Equação (9)] é uma adaptação da função ReLU. Ao contrário da função ReLU que zera todos os valores negativos, essa função aplica um fator de divisão aos valores de entrada tornando-os próximos de zero. Possui as mesmas vantagens da função anterior, porém é utilizada quando a rede ativada com ReLU está tendo dificuldades em convergir (Figura 12).

$$\begin{aligned} f(x) &= ax, x < 0 \\ f(x) &= x, x \geq 0 \end{aligned} \tag{9}$$

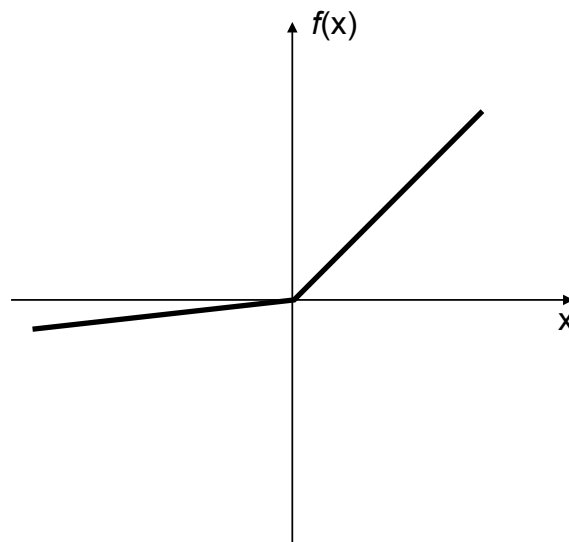


Figura 12 – Função de ativação linear retificada com vazamento.

1.3.1.3.7 Softmax

A função *Softmax* normalmente costuma ser aplicada apenas a camada de saída da rede neural. Muito utilizada em problemas de classificação com diversas classes, produz saídas com valores entre 0 e 1, onde sua soma sempre será igual a 1, podendo-se assim utilizar os resultados como probabilidades para cada uma das classes.

$$\sigma(z) = \frac{e^{z_j}}{\sum_{k=1}^k e^{z_k}} \quad p/j = 1, \dots, k. \quad (10)$$

1.3.1.4 Arquitetura das redes neurais

A habilidade na resolução de problemas da rede neural reside no número e forma que os neurônios estão conectados, nos pesos destas conexões e no número de camadas (FURTADO, 2019). A camada com os neurônios que

recebem a informação externa é conhecida como camada de entrada, a camada que apresenta a resposta da rede é a camada de saída, e entre elas podem existir diversas camadas ocultas (Figura 13). Uma das arquiteturas mais utilizadas para reconhecimento de padrões é do tipo perceptron *feedforward* de múltiplas camadas, na qual todas as saídas dos neurônios de uma camada são conectadas com todos os neurônios da camada posterior sempre na direção da entrada para saída, e sem conexões entre os neurônios de uma mesma camada (HAYKIN, 2001).

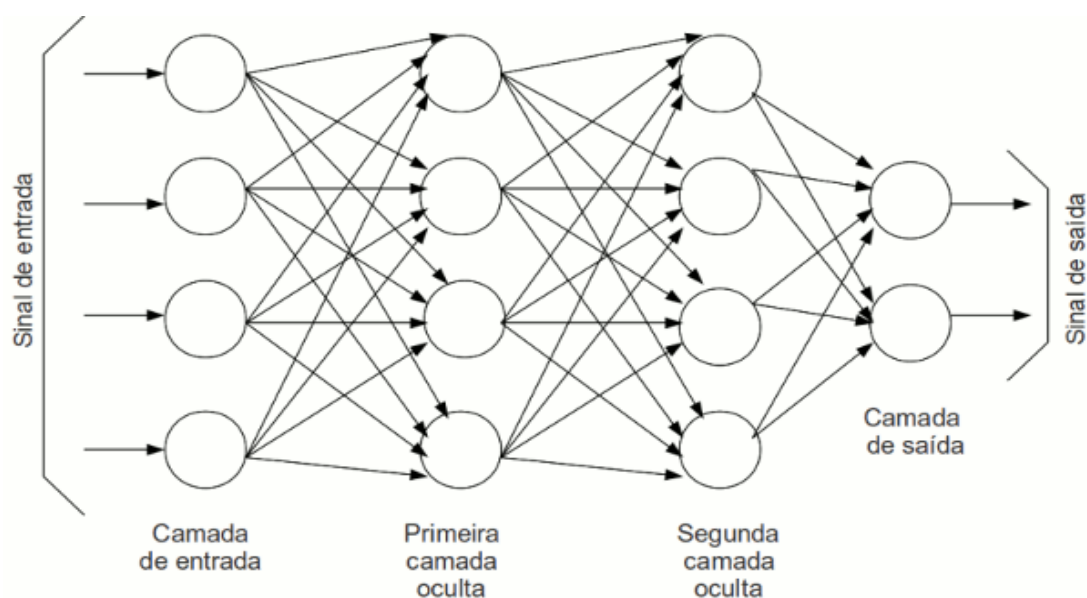


Figura 13 – Esquema de rede neural com quatro neurônios na camada de entrada, duas camadas ocultas com quatro neurônios cada e camada de saída com dois neurônios.

1.3.1.5 Algoritmo de aprendizagem propagação reversa (*backpropagation*)

O algoritmo de propagação reversa (*backpropagation*) é o algoritmo de aprendizagem mais comumente utilizado nas redes neurais com múltiplas camadas. Seu princípio é a correção dos erros durante o treinamento (BEALE; JACKSON, 1990).

Primeiramente, os dados de treinamento são colocados nas entradas da rede e são assim propagados camada por camada até gerarem uma saída. Os pesos e limiares dos neurônios não são alterados durante este processo. Com todas as respostas geradas pelas saídas, é feita uma comparação entre elas e as respostas desejadas (aprendizado supervisionado). Após este processo, o algoritmo *backpropagation* ajusta todos os pesos e limiares retornando novamente a mais um ciclo de treinamento, fazendo com que a soma dos erros produzidos pelas respostas da rede seja diminuída em relação às respostas desejadas.

1.3.1.6 Métricas para validação do modelo

1.3.1.6.1 Matriz de confusão

A matriz de confusão é uma métrica voltada para modelos de classificação que tem como objetivo disponibilizar a taxa de verdadeiro positivo, falso positivo, verdadeiro negativo e falso negativo. Ela exibe a distribuição dos registros em termos de suas classes atuais e de suas classes previstas, indicando assim a qualidade do modelo atual.

-Taxa de verdadeiro positivo (VP): percentual que foi predito positivo corretamente sobre o total que de fato era positivo.

-Taxa de falso positivo (FP): percentual que foi predito positivo sobre o total que de fato era negativo.

-Taxa de verdadeiro negativo (VN): percentual que foi predito negativo corretamente sobre o total que de fato era negativo.

-Taxa de falso negativo (FN): percentual que foi predito negativo sobre o total que de fato era positivo.

Com esses dados (FP, FN, VP e VN) é possível calcular algumas métricas que podem mensurar o resultado do modelo de RNA:

- Sensibilidade: proporção dos casos positivos que foram identificados corretamente (Equação 11).

$$\frac{VP}{(FN + VP)} \quad (11)$$

- Especificidade: proporção de casos negativos que foram identificados corretamente (Equação 12).

$$\frac{VN}{(VN + FP)} \quad (12)$$

- Acurácia: proporção de casos que foram corretamente previstos, sejam verdadeiros positivos ou verdadeiros negativos (Equação 13).

$$\frac{VP + VN}{(VP + VN + FP + FN)} \quad (13)$$

A acurácia é diferente de precisão, pois esta mede apenas o percentual de preditos positivos corretos dentro de todos os casos preditos positivos.

1.3.1.6.2 Curva característica de operação do receptor

A curva característica de operação do receptor (*receiver operating characteristic curve* – ROC) (Figura 14) consiste em uma representação gráfica do desempenho de um modelo de dados segundo sua taxa de sensibilidade (taxa de verdadeiro positivo) e a $1 -$ especificidade (taxa de falso positivo) (POLO; MIOT, 2020). Esta representação é uma maneira de visualizar o desempenho de um classificador e seu ponto ótimo de operação. Quanto mais perto do canto superior esquerdo [coordenadas (0,1)] a curva estiver, melhor o desempenho do modelo (100% de sensibilidade e 100% de especificidade). Quanto mais próximo do canto inferior direito [coordenadas (1,0)], pior o desempenho (0% de sensibilidade e 0% de especificidade).

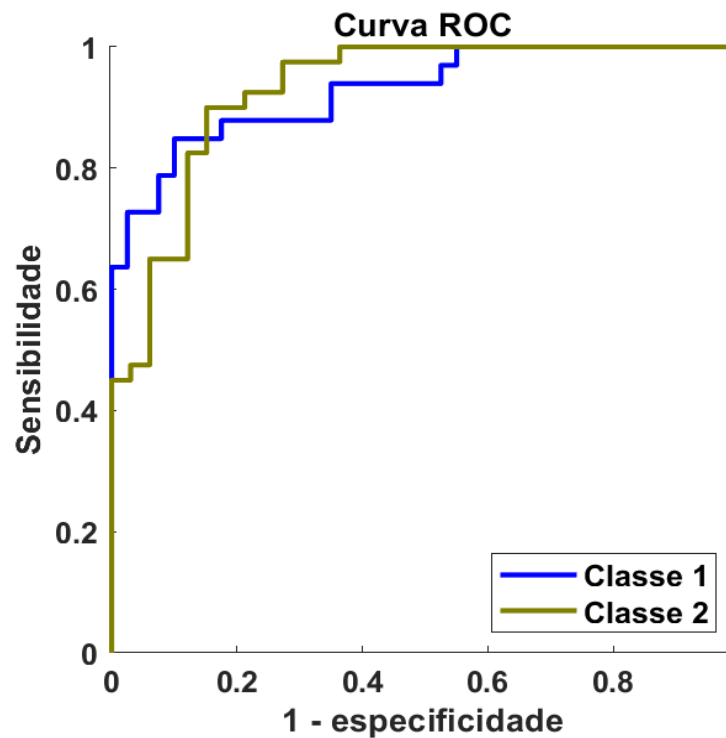


Figura 14 – Exemplo de curva característica de operação do receptor (ROC) com duas classes.

1.3.1.6.3 Método de validação cruzada

No intuito de examinar a precisão preditiva dos modelos ajustados, um dos métodos utilizados é o de validação cruzada denominado *k-fold* (Figura 15). A validação estima o desempenho do modelo em novos dados em comparação com os dados de treinamento, ajudando a escolher o melhor modelo e protegendo contra sobreajuste (*overfitting*). O método *k-fold* divide o conjunto de dados em *k* subconjuntos (*folds*). Feito isso, o modelo é treinado *k* interações de treinamento e validação, sendo executadas de tal forma que dentro de cada interação, um subgrupo é mantido para validação enquanto os subgrupos restantes são usados para aprendizado (CUNHA, 2019; REFAEILZADEH; TANG; LIU, 2008).

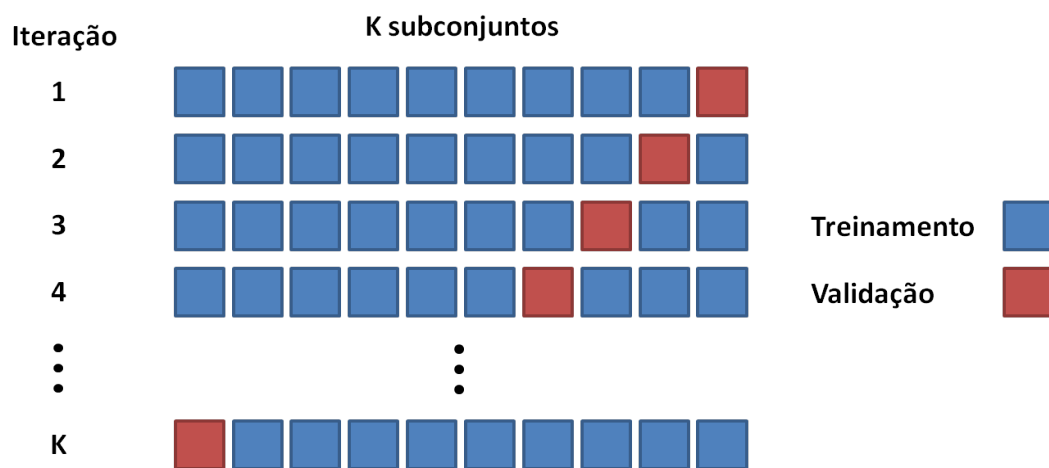


Figura 15 – Método de validação cruzada *k-fold*.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo geral

Este trabalho teve como objetivo a utilização de RNAs para classificação de espectros Raman de pele obtidos *in vivo* de lesões diagnosticadas com os tipos de câncer de pele não melanoma (CBC, CEC, CERAT), lesões benignas (BEN) e regiões normais circunjacentes às lesões (Normal).

2.2 Objetivos específicos

-Testar diversas configurações de redes, como número de camadas ocultas e número de neurônios em cada uma destas camadas e identificar qual tem maior capacidade de classificação.

-Analisar quais os picos espectrais possuem mais importância na decisão da rede neural.

-Comparar os resultados de classificação com outras técnicas utilizadas para classificação dos espectros (regressão por mínimos quadrados parciais – PLS).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Espectros Raman

Os 485 espectros Raman de pele *in vivo* utilizados neste estudo são oriundos do artigo de Silveira *et al.* (2015), sendo divididos em cinco grupos de classificação histológica conforme Tabela 1.

Tabela 1 – Quantidade de espectros em cada uma das categorias analisadas.

	Número de espectros	Quantidade de pacientes
Normais	251	25
CBC	133	14
CEC	30	4
CERAT	57	6
BEN	14	1

Em Silveira *et al.* (2015), a coleta dos espectros Raman foi feita *in vivo* de um total de 25 pacientes, sendo 15 homens e 10 mulheres, com um espectrômetro Raman portátil (modelo Dimension P-1, Lambda Solutions, Inc., MA, EUA) com comprimento de onda de 830 nm, potência laser ajustada para 200 mW, tempo de exposição de 20 s e resolução de aproximadamente 2 cm^{-1} no intervalo espectral de deslocamento Raman de 400 a 1800 cm^{-1} . Uma sonda Raman de aproximadamente 3 m de comprimento, com uma ponta para filtragem óptica (modelo Vector probe, Lambda Solutions, Inc., MA, EUA), foi conectada ao espectrômetro para coleta das amostras. Como etapa de pré-processamento, foram removidos os raios cósmicos e a fluorescência de fundo, sendo os dados normalizados pela área sob a curva (norma 1). O espectro Raman resultante é um vetor coluna com 1178 linhas que representa as intensidades do deslocamento Raman na faixa entre 400 e 1800 cm^{-1} . A Figura 16 mostra os espectros médios dos cinco grupos de espectros.

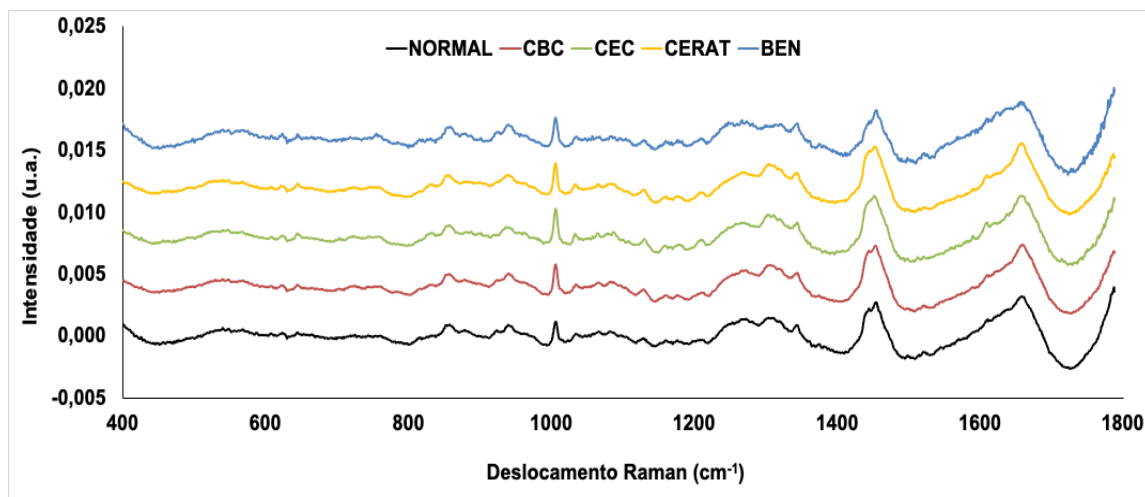


Figura 16 – Espectros médios dos grupos Normal, CBC, CEC, CERAT e BEN.

Utilizou-se o software Excel (versão 2016; Microsoft, Inc., WA, EUA) para a organização dos dados (separação dos espectros dos tecidos de pele em Normais, CBC, CEC, CERAT e BEN).

3.2 Classificação dos espectros

3.2.1 Redes neurais

Para cada rede gerada (script base apresentado no ANEXO A), o conjunto de dados foi separado em três grupos de forma aleatória com a finalidade de que não exista padrão no momento da divisão dos dados e assim cada observação tenha a mesma probabilidade de ser selecionada. Utilizou-se a função *dividerand* do Matlab com as seguintes proporções:

- Porcentagem de espectros de treino: 70%
- Porcentagem de espectros de validação: 15%
- Porcentagem de espectros de teste: 15%

Inicialmente sete redes *feedforward* com algoritmo *backpropagation* foram criadas com a mesma função de ativação nas camadas ocultas (ReLU) e camada de saída (Softmax). Alternou-se o número de camadas ocultas (1, 5, 10, 50) e o número de neurônios das camadas ocultas (10, 50, 100). O método de validação cruzada *k-fold* foi utilizado para validação do modelo. Neste estudo

foram usados cinco subgrupos para validação ($k = 5$) com 97 amostras cada. Estas sete redes neurais foram repetidas para analisar três diferentes situações:

- 1 – Classificação em regiões de pele Não Tumoral e Tumoral;
- 2 – Classificação em regiões de pele Normal e lesões CBC, CEC, CERAT e BEN;
- 3 – Classificação entre as lesões de pele (CBC, CEC, CERAT e BEN).

Todas as redes neurais criadas para este trabalho possuem 1178 neurônios na sua camada de entrada (*input*) referentes a cada um dos deslocamentos Raman dos espectros. As saídas (*output*) para cada uma das três situações que foram analisadas são modificadas conforme o número de classes que se deseja diferenciar (duas, cinco ou quatro categorias). Os pesos (w) e *bias* (b) foram iniciados de forma aleatória. A Figura 17 representa o diagrama inicial da rede neural com duas saídas e uma camada oculta (*hidden*).

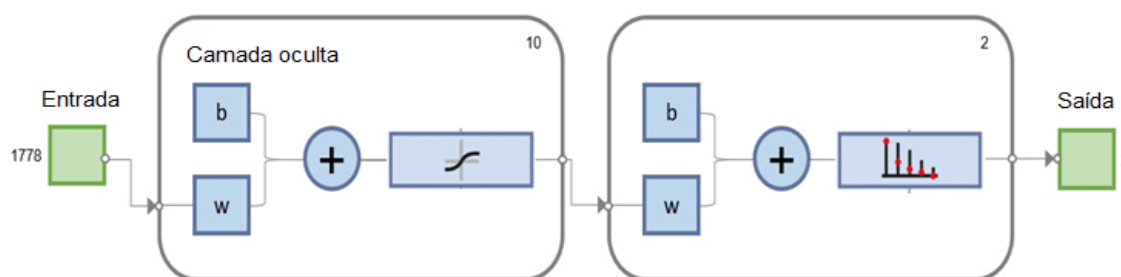


Figura 17 – Diagrama da rede neural *feedforward* com algoritmo *backpropagation* com uma camada oculta, 10 neurônios e duas saídas.

Para criação das RNAs foi utilizado o software Matlab (versão 2022a; Mathworks, Inc., MA, EUA) com o *toolbox Neural Net Pattern Recognition e Classification Learner* para criação, treinamento e teste das redes neurais artificiais (HUDSON; HAGAN; DEMUTH, 1992).

3.2.2 Análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA)

A título de comparação com os resultados da classificação por rede neural, empregou-se a análise discriminante (*discriminant analysis* – DA) com regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) com os dados dos espectros coletados, seguindo o mesmo modo de classificação: duas categorias (Não

Tumoral/ Tumoral), cinco categorias (Normal/ CBC/ CEC/ CERAT/ BEN), e quatro categorias (CBC/ CEC/ CERAT/ BEN) conforme também realizado em Silveira *et al.* (2015). O algoritmo PLS foi utilizado inicialmente para tarefas de regressão multivariada, e depois evoluiu para um método de classificação supervisionado onde se utiliza a regressão multivariada por mínimos quadrados parciais (PLS-DA) (SANTANA *et al.*, 2020). A PLS-DA é um algoritmo versátil que pode ser usado para fins preditivos e descritivos. Basicamente, a PLS-DA combina a redução de dimensionalidade e análise discriminante em um algoritmo e é particularmente aplicável à modelagem de dados com grandes dimensões (LEE; LIONG; JEMAIN, 2018), como é o conjunto de dados contendo espectros Raman.

Para a aplicação da PLS-DA foi utilizado o software de licença livre Chemoface (disponível em: <https://www.ufla.br/chemoface/>) (NUNES *et al.*, 2012) sendo modeladas 10 variáveis latentes.

3.3 ANOVA

A fim de avaliar o peso de cada uma das entradas (intensidade em cada ponto do espectro Raman), a análise de variância (ANOVA) foi utilizada para identificar quais faixas do espectro Raman (deslocamentos Raman – *Raman shifts*) teriam mais importância na classificação dos espectros. Para isso, foi empregado o *toolbox Statistics and Machine Learning* do Matlab (HUDSON; HAGAN; DEMUTH, 1993) e aplicado sobre a rede 8, rede com uma camada oculta e 10 neurônios nesta camada, utilizada para classificação em regiões de pele Normal e lesões CBC, CEC, CERAT e BEN (5 saídas). Esta ANOVA resulta de um espectro com picos onde ocorrem as maiores significâncias para a classificação da rede.

4 RESULTADOS

4.1 Acurácia das redes neurais na classificação dos espectros

A fim de se testar se a escolha aleatória dos espectros para divisão dos grupos de treino, validação e teste (70%, 15% e 15%, respectivamente) teria influência na acurácia de classificação, a rede neural 1 (modelo com uma camada oculta, dez neurônios na camada oculta e duas saídas) foi escolhida para ser treinada por 10 vezes, obtendo-se 10 resultados de acurácia. A Figura 18 mostra os resultados da classificação; apesar do desempenho do grupo de teste sofrer alterações durante cada novo treino, dada a aleatoriedade de inclusão dos espectros em cada grupo, a média foi 93,4% com desvio padrão de 2,0%, o que sugere um ótimo desempenho no padrão de escolha aleatória dos espectros na rede neural criada para classificação dos tecidos normais e com os diversos tipos de lesões de pele apresentadas neste estudo.

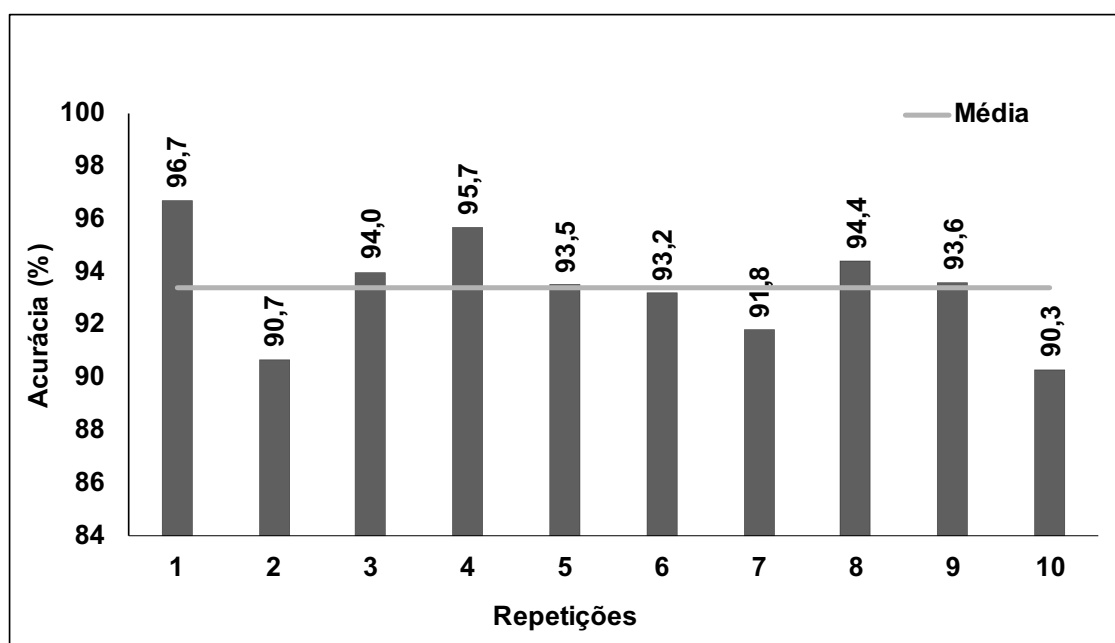


Figura 18 – Acurácia das 10 repetições da rede neural *feedforward* com *backpropagation* para avaliação da aleatoriedade da escolha dos grupos de treino, validação e teste.

4.1.1 Diferenciação entre regiões de pele Não Tumoral e Tumoral

As redes de 1 a 7 com as diferentes configurações de número de neurônios e camadas (Tabela 2) foram alimentadas com os espectros no intuito de que esta separasse o conjunto de dados em dois grupos de acordo com o tipo de região analisada: Não Tumoral e Tumoral, possuindo assim, dois neurônios na sua camada de saída.

Tabela 2 – Redes neurais de 1 a 7 com respectivos números de camadas ocultas e neurônios por camada.

Rede	Neurônios	Camadas
1	10	1
2	50	1
3	100	1
4	10	5
5	10	10
6	50	10
7	100	50

A Figura 19 mostra o desempenho de cada uma das redes (1 a 7) para os dados de treino e teste.

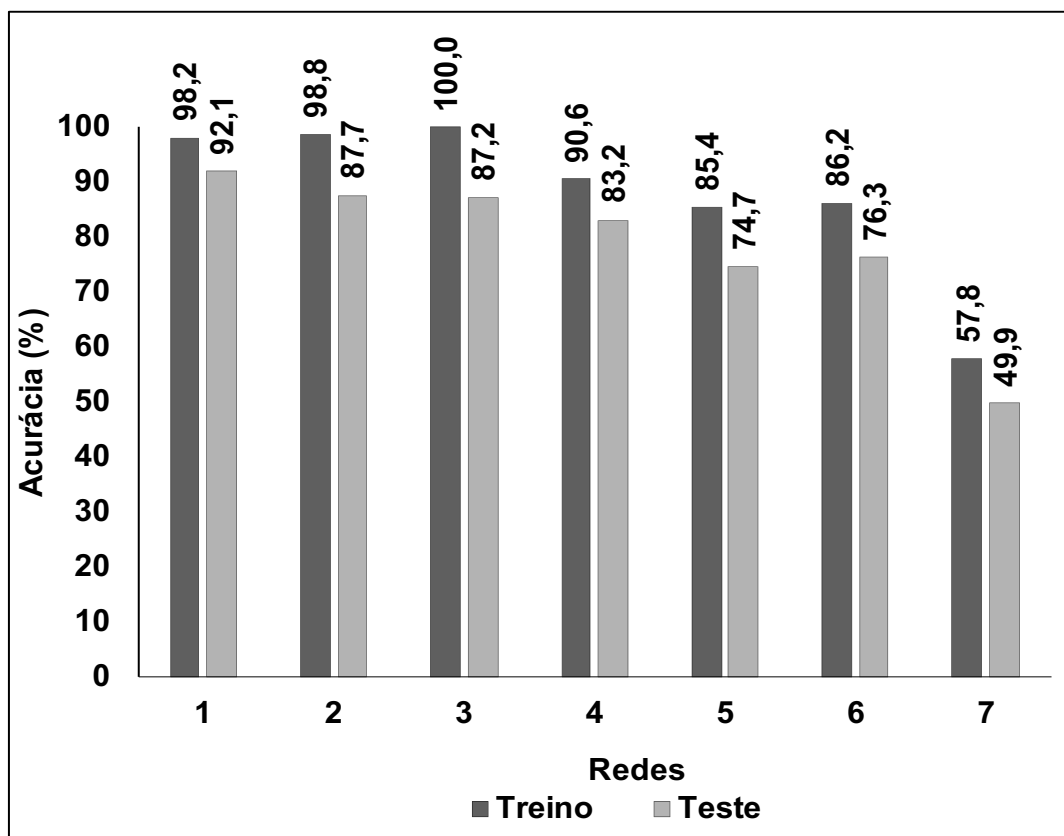


Figura 19 – Acurácia das redes de 1 a 7 para os dados de treino e teste na classificação entre regiões de pele Não Tumoral e Tumoral.

O modelo com melhor desempenho foi a rede número 1 (uma camada oculta com 10 neurônios) que chegou a uma acurácia de 98,2% no treino e 92,1% no teste (Figura 10). Verificou-se que com o aumento no número de neurônios da camada oculta, a acurácia no conjunto de dados de treino também aumentou, chegando a uma acurácia de 100% para a rede 3. Porém, a acurácia no conjunto de teste diminuiu, o que sugere ocorrência de sobreajuste (*overfitting*), que ocorre quando o modelo se ajusta excessivamente ao conjunto de dados de treino, não conseguindo generalizar para novos dados (grupo de teste). Com o aumento do número de camadas ocultas, o desempenho do modelo diminuiu, mesmo aumentando-se o número de neurônios destas camadas. Como o erro médio é utilizado durante o treinamento para atualizar os pesos das sinapses da camada anterior, ele se torna mais impreciso com o aumento do número de camadas. Sendo assim, com um banco de dados de

tamanho não muito grande, o aumento das camadas piora o desempenho e decorrem problemas de classificação.

A matriz de confusão da rede 1 (Tabela 3) mostra os acertos (diagonal principal da matriz) e erros (diagonal secundária) das saídas (valores preditos pelo modelo) em relação às classes alvo (valores reais) totais. A saída 1 (negativo) corresponde ao grupo dos tecidos Não Tumoraes e a saída 2 (positivo), ao grupo dos tecidos Tumoraes. A acurácia geral da rede 1 (para os espectros de treino, validação e teste) foi de 95,5%.

Tabela 3 – Matriz de confusão da rede 1 com erros e acertos por grupo para classificação entre os grupos Não Tumoral e Tumoral.

Valor Real	Valor Previsto	
	Não Tumoral	Tumoral
Não Tumoral	252	13
Tumoral	9	211
Acurácia	95,5%	
Sensibilidade	95,9%	
Especificidade	95,1%	

Na Figura 20, as curvas de características de operação do receptor (curvas ROC) da rede 1 mostram a razão entre a taxa de verdadeiros positivos (sensibilidade) e a taxa de falsos positivos (1 – especificidade). A análise da curva ROC indicou que o modelo empregado nesta RNA possui sensibilidade e especificidade maiores que 95%.

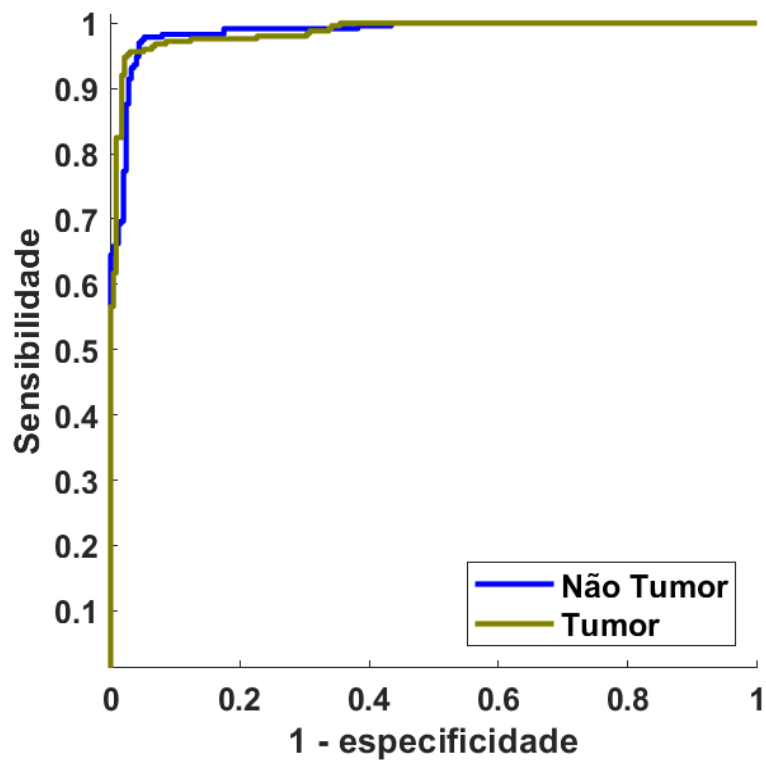


Figura 20 – Curva ROC da rede neural 1 para os grupos Não Tumor e Tumor.

4.1.2 Diferenciação entre regiões de pele Normal, CBC, CEC, CERAT e BEN.

As redes 8 a 14 seguem o mesmo modelo das 7 redes iniciais, com a camada de saída passando a ter cinco neurônios visando diferenciar cinco grupos diferentes de espectros (Normal, CBC, CEC, CERAT e BEN) conforme Tabela 4.

Tabela 4 – Redes neurais de 8 a 14 com respectivos números de camadas ocultas e neurônios por camada.

Rede	Neurônios	Camadas
8	10	1
9	50	1
10	100	1
11	10	5
12	10	10
13	50	10
14	100	50

Como ocorreu com as redes 1 a 7, o aumento no número de neurônios na camada oculta, o desempenho dos dados de treino aumentou, porém houve uma diminuição considerável no desempenho dos dados de teste, o que sugere um sobreajuste da rede. Com o acréscimo no número de camadas ocultas, a acurácia do modelo caiu drasticamente (Figura 21). O modelo com melhor desempenho foi a rede 8 (uma camada oculta com 10 neurônios), que apesar de apresentar uma acurácia menor nos dados de treino que as redes 9 e 10, houve uma acurácia maior nos dados de teste como o ocorrido nas redes anteriores com apenas duas saídas.

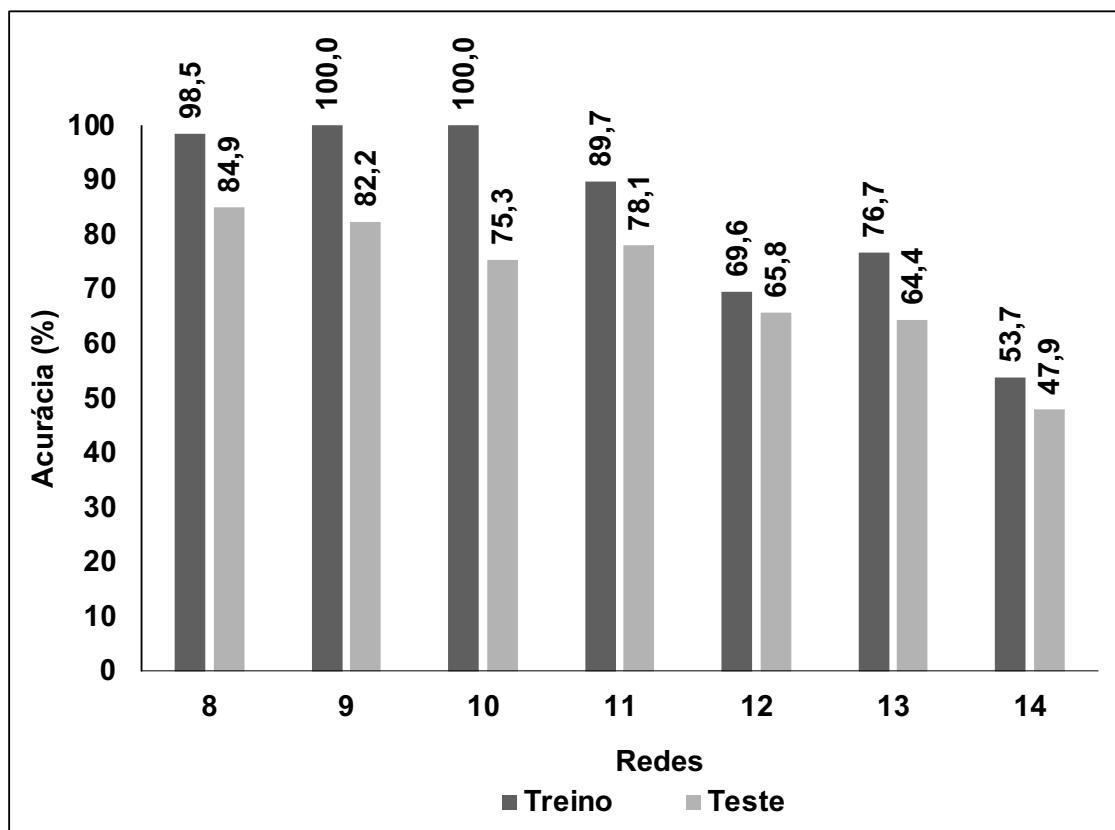


Figura 21 – Acurácia das redes de 8 a 14 para os dados de treino e teste no diagnóstico entre tecidos Normal, CBC, CEC, CERAT e BEN.

Com o aumento de categorias de diagnóstico de duas (Não Tumoral X Tumoral) para cinco (Normal X CBC X CEC X CERAT X BEN), a acurácia geral da rede diminui. A matriz de confusão da rede 8 (Tabela 5) mostra que o modelo previu corretamente 243 espectros pertencentes à categoria de tecido normal contra apenas 12 falsos positivos, com uma acurácia de mais de 95% nesta categoria. O número de previsões corretas por esta rede em todas as categorias foi de 452 espectros, com somente 33 falsos positivos. A acurácia total do modelo de classificação dos espectros dos cinco grupos (Normal, CBC, CEC, CERAT e BEN) foi de 93,2%.

Tabela 5 – Matriz de confusão da rede 8 com erros e acertos para classificação entre os grupos Normal, CBC, CEC, CERAT e BEN.

Valor Real	Valor Previsto				
	Normal	CBC	CEC	CERAT	BEN
Normal	243	6	0	1	1
CBC	8	120	2	1	2
CEC	1	7	21	1	0
CERAT	2	0	0	55	0
BEN	1	0	0	0	13
Acurácia	93,2%				

A curva ROC (Figura 22) para cada grupo de classificação histológica mostrou que o grupo CEC apresentou a menor sensibilidade (70,0%). A sensibilidade do grupo Normal ficou em 96,8%, do grupo CBC em 90,2%, do grupo CERAT em 96,5% e do grupo BEN em 92,9%.

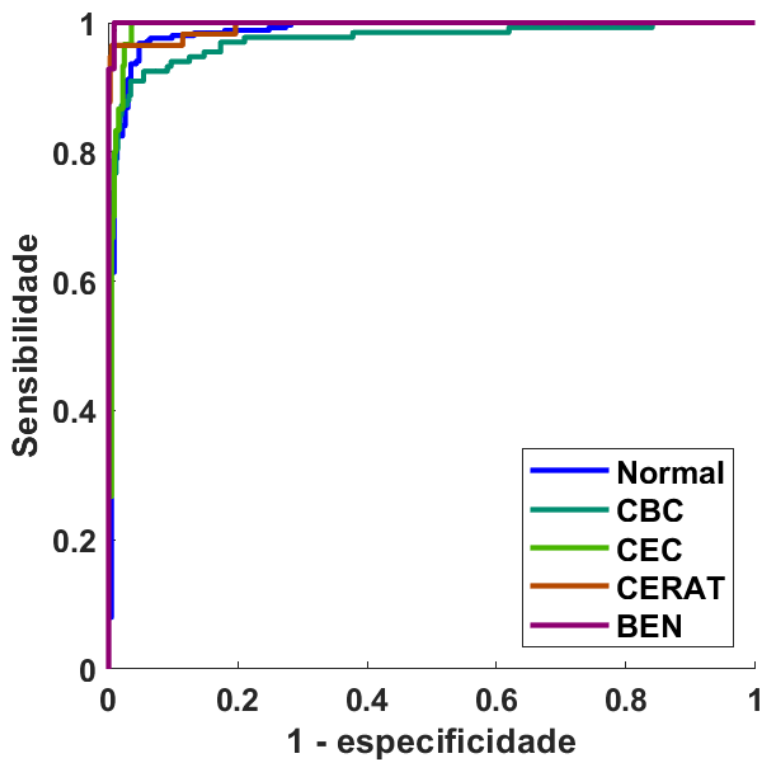


Figura 22 – Curva ROC da rede neural 8 para os grupos Normal, CBC, CEC, CERAT e BEN.

4.1.3 Diferenciação entre regiões de pele tumorais: CBC, CEC, CERAT e BEN.

A fim de se classificar os diversos tipos de lesões (diagnóstico diferencial entre as doenças), sejam elas malignas (CBC e CEC) ou lesões pré-malignas (CERAT) e benignas (BEN), as redes 15 a 21 foram criadas seguindo os mesmos modelos das redes anteriores (Tabela 6), agora com quatro neurônios na camada de saída, representando as categorias CBC, CEC, CERAT e BEN.

Tabela 6 – Redes neurais de 15 a 21 com respectivos números de camadas ocultas e neurônios por camada.

Rede	Neurônios	Camadas
15	10	1
16	50	1
17	100	1
18	10	5
19	10	10
20	50	10
21	100	50

Nessas redes foi observado o mesmo comportamento do encontrado nas outras redes anteriores: queda na acurácia do grupo de dados de teste e queda de desempenho geral com o aumento no número de neurônios das camadas ocultas. Neste caso chegou-se a uma acurácia de 98,8% nos dados de treino e 88,6% nos dados de teste para a rede 15 (Figura 23).

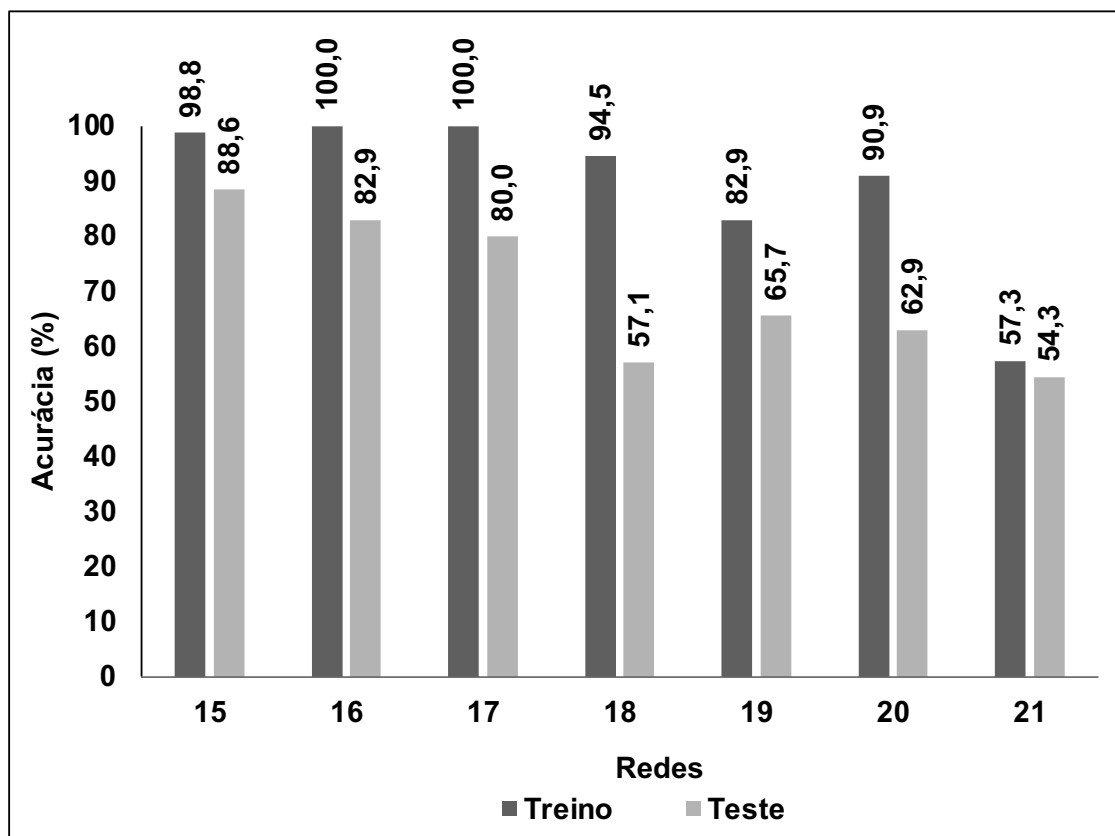


Figura 23 – Acurácia das redes neurais de 15 a 21 nos dados de treino e teste para classificação entre os tipos de lesão CBC, CEC, CERAT e BEN.

A rede 15 (com uma camada oculta e 10 neurônios nesta camada) foi a que apresentou menor discrepância na acurácia entre os dados de treino e dados de teste. Esta rede foi a que evidenciou a maior acurácia total entre todos os modelos criados para o diagnóstico dos diversos tipos de lesões (CBC, CEC, CERAT e BEN) (Tabelas 2, 4 e 6).

Tabela 7 – Matriz de confusão da rede 15 com erros e acertos para classificação entre os grupos CBC, CEC, CERAT e BEN.

Valor Real	Valor Previsto			
	CBC	CEC	CERAT	BEN
CBC	131	1	0	1
CEC	2	28	0	0
CERAT	3	0	54	0
BEN	1	0	0	13
Acurácia	96,6%			

Os valores de sensibilidade de todos os grupos mostrados na curva ROC (Figura 24) ficaram acima de 92%, o que sugere uma excelente aplicabilidade deste modelo de classificação dos espectros Raman baseado em redes neurais para diagnóstico diferencial das lesões de pele não melanoma.

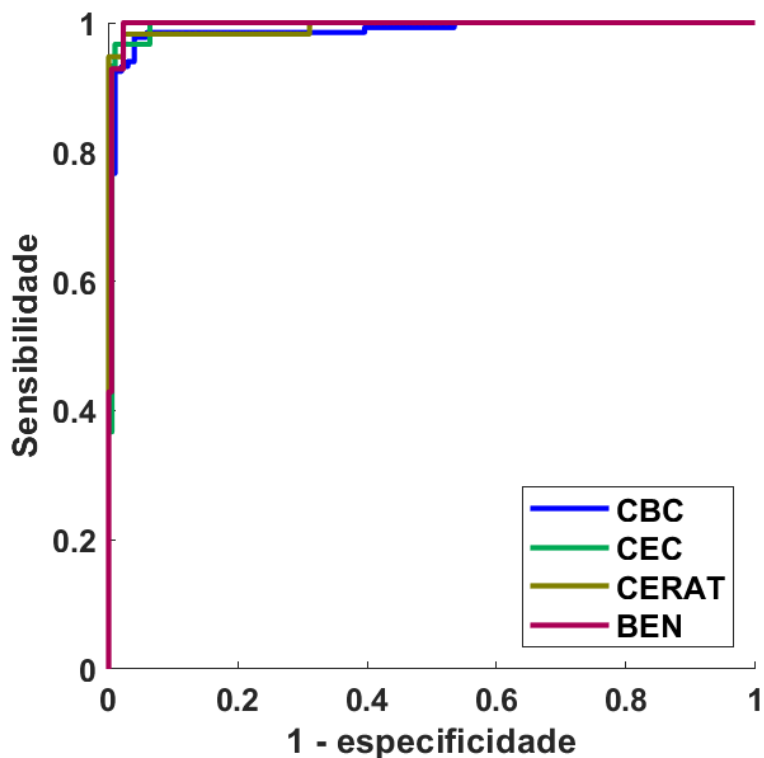


Figura 24 – Curva ROC da rede neural 15 para as categorias CBC, CEC, CERAT e BEN.

4.2 ANOVA

A ANOVA pretendeu identificar quais faixas do espectro Raman teriam mais importância na classificação dos espectros em cada uma das categorias. Conforme observado na Figura 25, a região com maior contribuição na diferenciação das diversas categorias foi a de 1008 cm^{-1} , região referente a picos de proteínas (juntamente com a região de 1450 cm^{-1}) (SILVEIRA *et al.*, 2015), sugerindo mudanças moleculares no estiramento da ligação CH e cadeias laterais aromáticas em proteínas (GNIADOCKA *et al.*, 2004). Segundo Zhao *et al.* (2017), o pico em torno de 1000 cm^{-1} foi observado em todas as patologias, devido ao fato de ser característico de proteínas, porém estas estão alteradas em processos neoplásicos. Também foi observada a importância das regiões de 1200 cm^{-1} (amida III) e em torno de 1630 cm^{-1} (amida I), regiões estas que refletem estrutura secundária de proteínas (LUI *et al.*, 2012). A região de 1330 cm^{-1} sugere a influência do colágeno e ácidos nucleicos (ZHAO *et al.*, 2017) e o

pico em 1450 cm^{-1} sugere a contribuição dos lipídios além das proteínas. Em 1730 cm^{-1} , picos Raman com maior intensidade são encontrados em cânceres de pele pigmentados. Esta banda é atribuída ao estiramento da ligação C=O dos lipídios, porém podem conter contribuição de melanina (GNIADÉCKA *et al.*, 1997).

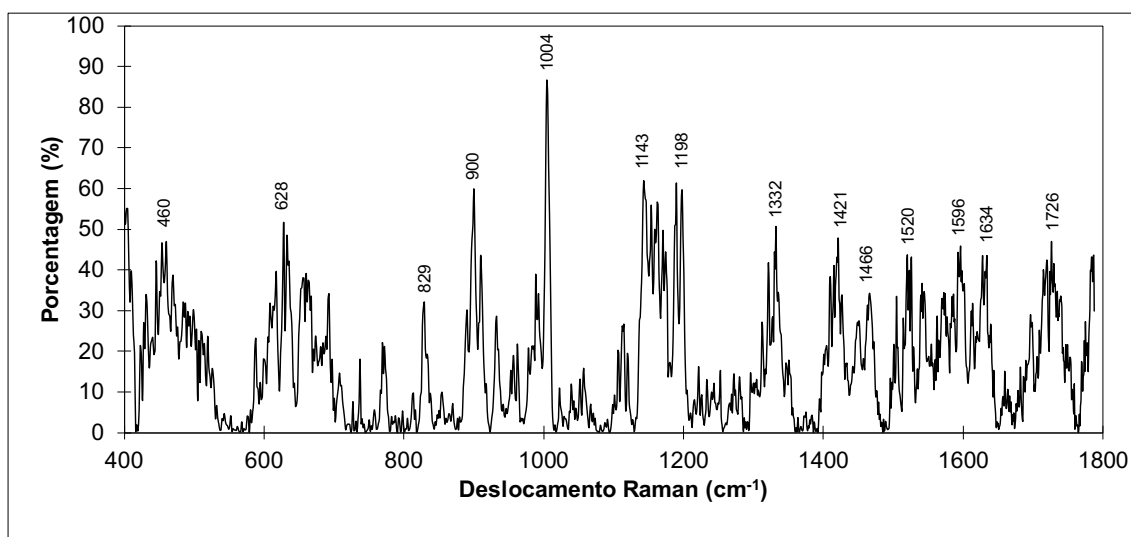


Figura 25 – Pesos das bandas Raman na decisão das redes neurais obtidos via ANOVA.

4.3 Acurácia das redes neurais com pré-processamento via PCA e diagnóstico por PLS-DA

4.3.1 PCA

A fim de testar se uma técnica multivariada de redução de variáveis aplicada no conjunto de dados antes da aplicação do modelo de rede neural poderia melhorar a resposta da mesma, a análise de componente principal (PCA) foi aplicada nos espectros e sete redes foram criadas com a mesma função de ativação nas camadas ocultas (ReLU) e de saída (Softmax), números de camadas (1, 5, 10 e 50) e número de neurônios por camada (10, 50, 100) e aplicadas nas variáveis de saída PCA, conforme mostrado na Tabela 8. A ideia

é que, ao diminuir-se o número de variáveis espectrais analisadas pela rede neural, o desempenho geral pudesse aumentar. A PCA transforma linearmente os preditores para remover dimensões redundantes e gera um novo conjunto de variáveis chamado componentes principais (PCs). Foram utilizados os componentes PCs que explicam 95% da variância.

Tabela 8 – Redes neurais criadas para teste de desempenho da PCA aplicada como pré-processamento à classificação via RNA.

Rede	Neurônios	Camadas
22	10	1
23	50	1
24	100	1
25	10	5
26	10	10
27	50	10
28	100	50

Os modelos foram aplicados duas vezes: sem PCA e com PCA. Para evitar que a escolha aleatória dos espectros em cada modelo pudesse gerar interferência na acurácia e atrapalhar a comparação entre os modelos sem e com PCA, para esta comparação os espectros de treino, validação e teste (70%, 15%, 15%, respectivamente) foram fixados.

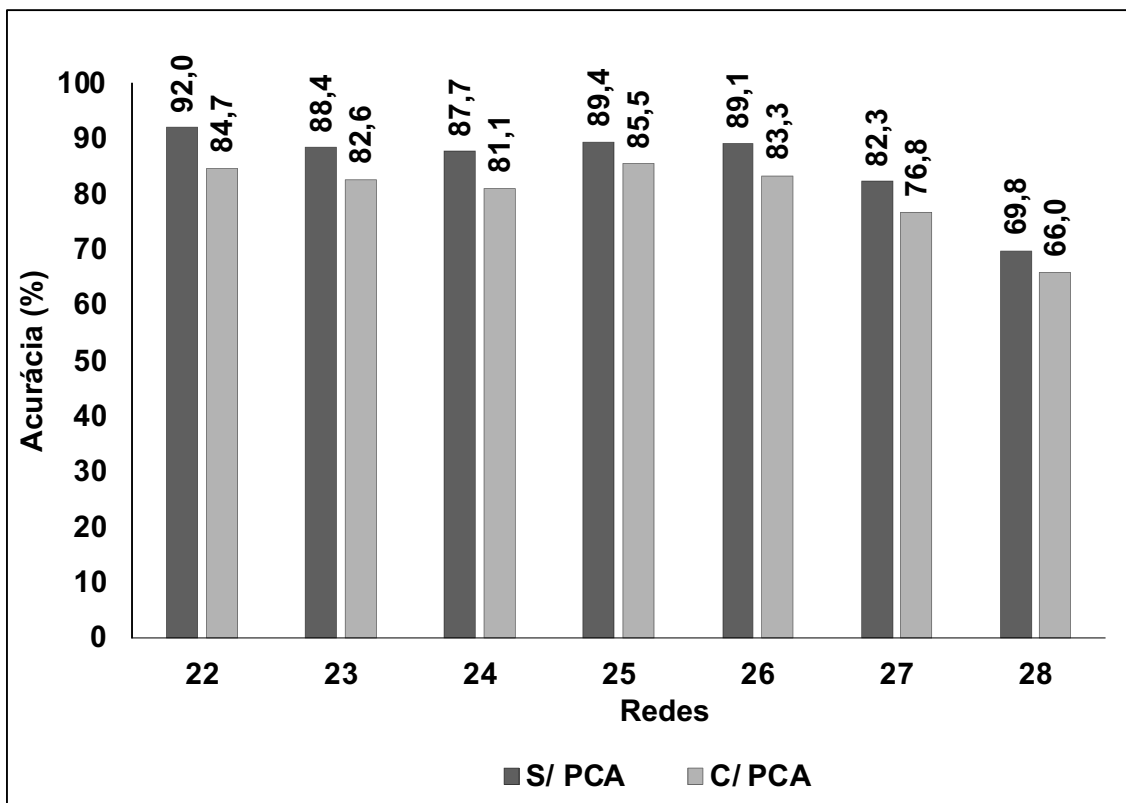


Figura 26 – Acurácia das redes neurais 22 a 28 sem PCA e com PCA como pré-processamento.

Conforme apresentado na Figura 26, todas as redes testadas tiveram uma diminuição da sua acurácia após a PCA. Porém, apesar da queda de acurácia da RNA com PCA, pôde-se observar um menor tempo de processamento. A Figura 27 apresenta os resultados desta comparação.

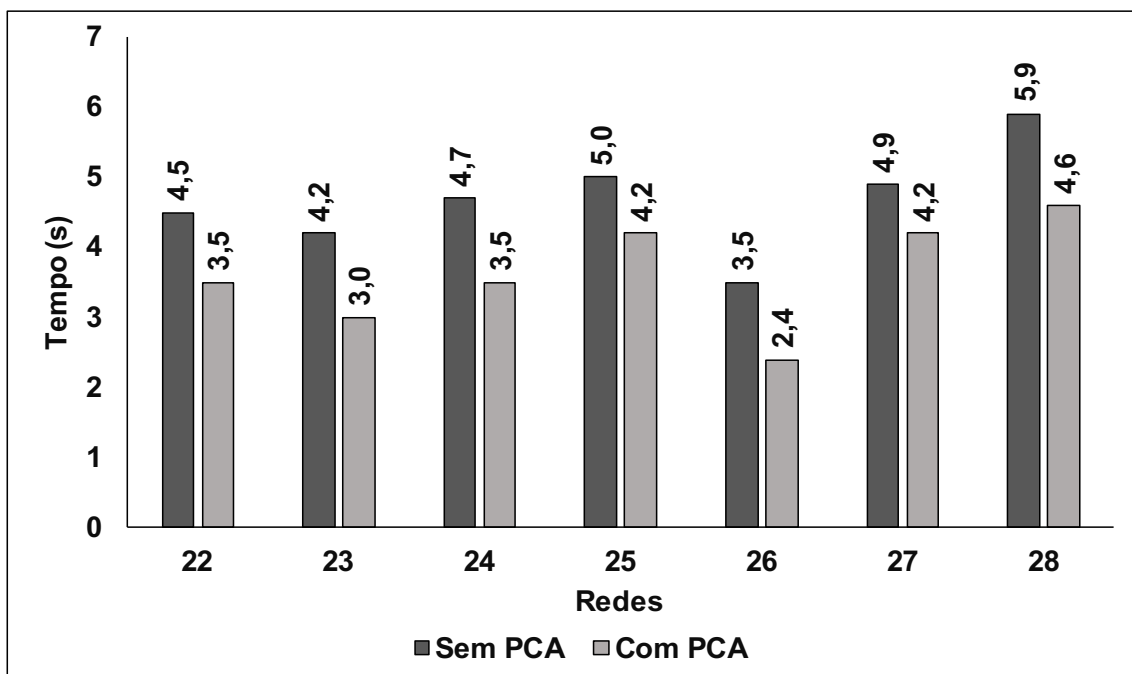


Figura 27 – Tempo de processamento das redes neurais 22 a 28 sem PCA e com PCA.

Testou-se também se a diminuição do número de neurônios na camada oculta poderia piorar a acurácia da RNA com pré-processamento por PCA. Para isso foi utilizada uma rede neural com as mesmas características das outras (função de ativação ReLU na camada oculta e Softmax na de saída). Alternou-se apenas o número de neurônios nesta única camada oculta (10, 7, 5 e 3). Foi possível observar que a diminuição desses neurônios também acarretou uma diminuição geral da acurácia (Tabela 9).

Tabela 9 – Acurácia das RNAs com pré-processamento via PCA e apenas uma camada oculta.

Neurônios	Acurácia
10	84,7%
7	74,4%
5	67,2%
3	65,6%

4.4 PLS-DA

Os resultados da classificação utilizando as redes neurais 1, 8 e 15 foram comparados com os resultados da classificação através da PLS-DA, mesma metodologia empregada por Silveira *et al.* (2015). Para tal, o modelo PLS-DA foi obtido utilizando-se 10 variáveis latentes com classificação Não Tumoral X Tumoral, Normal X CBC X CEC X CERAT X BEN e CBC X CEC X CERAT X BEN, e seu desempenho foi comparado ao resultado obtido pela classificação por RNAs (redes 1, 8 e 15, respectivamente). Na Tabela 10 é possível observar que a RNA conseguiu uma acurácia maior que a PLS-DA em todas as comparações.

Tabela 10 – Comparação do desempenho entre a classificação via PLS-DA e via RNA das redes 1, 8 e 15.

Grupos	Classificação	
	RNA	PLS-DA
Não Tumoral X Tumoral	95,5%	77,7%
Normal X CBC X CEC X CERAT X BEN	93,2%	83,2%
CBC X CEC X CERAT X BEN	96,6%	82,5%

5 DISCUSSÃO

Com o comparativo das RNAs, verificou-se que as redes não necessitam de muitas camadas ocultas e muitos neurônios nestas camadas. Ao contrário do que pode ser suposto, redes de arquitetura simples podem ajudar no diagnóstico, evitando-se o *overfitting* e fornecendo alta acurácia de diagnóstico. Quanto à utilização da PCA como pré-processamento da RNA, sugere-se que algumas variáveis importantes para a análise da rede neural possam ter sido perdidas com a utilização da PCA, decorrendo a queda da acurácia geral da rede. Lopes *et al.* (2017) testou pré-processamento utilizando a PCA em uma RNA para classificação de modelos de automóveis. Este concluiu que a PCA pode ajudar na classificação da RNA, porém o número de características utilizadas no modelo eram apenas 18, diferentemente do espectro Raman que possui 1178 características (uma para cada deslocamento Raman no espectro observado). Em um estudo sobre o desempenho da PCA como pré-processamento da RNA para detecção de quedas em idosos, Artoni *et al.* (2016) concluíram que a PCA pode dificultar um classificador de executar seu padrão de reconhecimento, emaranhando os dados e diminuindo a acurácia da RNA quando aplicada como pré-processamento.

Silveira *et al.* (2015) utilizou a discriminação por PCA (PCA-DA) e PLS-DA a fim de diferenciar regiões de pele normal de regiões tumorais *in vivo*, onde os espectros foram os mesmos deste estudo. Na diferenciação entre tecidos Normal, CBC, CEC e CERAT, o estudo chegou a uma acurácia global de 75,8% para a PCA e de 77,8% para a PLS-DA. Baria *et al.* (2020) comparou a análise discriminante linear (LDA) com a RNA para reconhecimento de tipos de células melanomas *in vitro*. Com a LDA, a precisão foi de 92,7%, e com a RNA, a precisão foi de 96,7%. Em um artigo de revisão, Naraynamurthy *et al.* (2018) comparou diversos tipos de técnicas não invasivas para detecção de câncer de pele, entre elas a espectroscopia Raman em conjunto com a RNA. Os autores concluíram que os algoritmos de RNA, LDA e mínimos quadrados lineares associados à espectroscopia Raman podem aumentar a acurácia do diagnóstico. Wu *et al.* (2021) propôs a uso de redes neurais profundas para

classificação de CBC e CEC. Em seu estudo, ele utilizou uma rede neural do tipo convolucional, obtendo uma acurácia acima de 90%. Gniadecka *et al.* (2004) utilizou-se da RNA em conjunto a espectroscopia Raman para diagnóstico de câncer de pele melanoma em amostras *in vitro*, chegando a uma sensibilidade de 85% e especificidade de 99%. Um resumo dos principais resultados destes estudos é apresentado na Tabela 11.

Tabela 11 – Estudos publicados que utilizaram técnicas de aprendizado de máquina em conjunto a espectroscopia Raman para diagnóstico de câncer de pele.

Estudo	Método	Descrição	Resultados
Silveira <i>et al.</i> (2015)	PCA/ PLS-DA	Diferenciação entre regiões de pele normais e tumorais	Acurácia: 75,8% (PCA) 77,8% (PLS-DA)
Baria <i>et al.</i> (2021)	LDA/ RNA	Reconhecimento de células melanomas <i>in vitro</i>	Acurácia: 92,7% (LDA) 96,7% (RNA)
Naraynamurthy <i>et al.</i> (2018)	RNA	Revisão de artigos diagnóstico de câncer de pele	Acurácia: 80 a 90%
Wu <i>et al.</i> (2021)	RNA Conv.	Diagnóstico de câncer de pele	Acurácia: 90%
Gniadecka <i>et al.</i> (2004)	RNA	Diagnóstico de melanoma <i>in vitro</i>	Sensibilidade: 85% Especificidade: 99%

Independentemente da técnica de aprendizado de máquina aplicada, todos os artigos citados neste trabalho (BARIA *et al.*, 2020; GNIADCKA *et al.*, 1997; GNIADCKA *et al.*, 2004; LUI *et al.*, 2012; NARAYANAMURTHY *et al.*,

2018; WU *et al.*, 2021; ZHAO *et al.*, 2017), mostraram as vantagens na utilização das RNAs na discriminação e classificação dos espectros Raman em aplicações de diagnóstico.

O resultado da ANOVA mostrou que as bandas com maiores pesos na decisão das RNAs são aquelas relacionadas a alterações em processos neoplásicos. Na Figura 25, a região em torno de 800 a 1004 cm^{-1} , juntamente com a região de 1460 cm^{-1} referente às proteínas foram relatadas nos estudos de SILVEIRA *et al.*, 2015; GNIADÉCKA *et al.*, 2004; LUI *et al.*, 2012 e ZHAO *et al.*, 2017. As bandas referentes aos lipídeos (1332, 1421 e 1726 cm^{-1}) também se encontraram alteradas, conforme descritos nos estudos de GNIADÉCKA *et al.*, 1997 e ZHAO *et al.*, 2017.

Muitas aplicações futuras podem ser desenvolvidas com a utilização da espectroscopia Raman em conjunto com as RNAs, inclusive a automatização da classificação de espectros. Alguns sistemas Raman portáteis possuem sistemas operacionais embarcados (espectrômetros da família Cora 5X00, Anton Paar GmbH, por exemplo), podendo assim serem adaptados para futura utilização em ambientes clínicos. As RNAs podem ser utilizadas inclusive via *web browsers*, não sendo necessário grande poder de processamento destes dispositivos.

6 CONCLUSÃO

Neste trabalho, as redes com menor número de camadas ocultas (1) e menor número de neurônios nestas camadas (10) apresentaram os melhores resultados em acurácia na classificação dos espectros Raman. A rede 1 apresentou uma acurácia de 95,5% na classificação de regiões de pele Não Tumoral e Tumoral; a rede 8 apresentou uma acurácia de 93,2% na classificação de regiões de pele Normal, CBC, CEC, CERAT e BEN; a rede 15 apresentou uma acurácia de 96,6% na classificação de lesões de pele CBC, CEC, CERAT e BEN. Além disso, as redes 1, 8 e 15 tiveram acurácia maior que a PLS-DA na classificação das três situações apresentadas.

A utilização da PCA no intuito da diminuição das componentes e melhora do desempenho das redes neurais não se mostrou adequada nestes dados Raman, diminuindo a acurácia das redes na classificação de regiões Normal, CBC, CEC, CERAT e BEN.

A espectroscopia Raman tem sido proposta como ferramentas no diagnóstico de diversas patologias, porém a dificuldade na interpretação dos resultados ainda é uma barreira para a prática clínica. As redes neurais artificiais podem complementar a técnica, ajudando na integração com o usuário final e possibilitando a análise em tempo real.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, R. P. *et al.* Use of Raman spectroscopy to evaluate the biochemical composition of normal and tumoral human brain tissues for diagnosis. **Lasers Med. Sci.**, [s. l.], v. 37, p. 121–133, 2020.

ARTONI, F. *et al.* Principal component analysis can decrease neural networks performance for incipient falls detection: A preliminary study with hands and feet accelerations. **Annu. Int. Conf. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.**, [s. l.], p. 6194-6197, 2016.

BAHREINI, M. *et al.* A Raman-based serum constituents' analysis for gastric cancer diagnosis: In vitro study. **Talanta**, [s. l.], v. 204, p. 826-832, 2019.

BARIA, E. *et al.* Supervised learning methods for the recognition of melanoma cell lines through the analysis of their Raman spectra. **J. Biophotonics**, [s. l.], v. 14, n. 3, p. e202000365, 2020.

BARRETO, J. M. **Introdução às redes neurais artificiais**. Florianópolis: UFSC, 2002. 57 p.

BEALE, R.; JACKSON, T. **Neural computing: an introduction**. 1. ed. Bristol: IOP, 1990. 223 p.

BOMFIM, S. S.; GIOTTO, A. C.; SILVA, A. G. Câncer de pele: conhecendo e prevenindo a população. **Rev. Cient. Sena Aires**, [s. l.], v. 7, n. 3, p. 255-259, 2018.

BORGES, R. R. *et al.* Sincronização de disparos em redes neuronais com plasticidade sináptica. **Rev. Bras. Ens. Fis.**, Ponta Grossa, v. 37, n. 2, p. 2310/1-2310/9, 2015.

BRANDT, M. G.; MOORE, C. Nonmelanoma skin cancer. **Facial Plast. Surg. Clin. North Am.**, [s. l.], v. 27, n. 1, p. 1-13, 2019.

CHALMERS, J. M.; GRIFFITHS, P. R. **Handbook of vibrational spectroscopy**. Chichester: John Wiley & Sons, 2002. 3862 p. v. 1-5.

CIAŻYŃSKA, M. *et al.* The incidence and clinical analysis of non-melanoma skin cancer. **Sci. Rep.**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 4337 - 4358, 2021.

CORREIA, N. A. *et al.* Detection of prostate cancer by Raman spectroscopy: A multivariate study on patients with normal and altered PSA values. **J. Photochem. Photobiol. B Biol.**, [s. l.], v. 204, p. 1-6, 2020.

CUNHA, J. P. **Um estudo comparativo das técnicas de validação cruzada aplicadas a modelos mistos**. 2019. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2019.

DIDONA, D. *et al.* Nonmelanoma skin cancer pathogenesis overview. **Biomedicines**, v. 6, ed. 1, p. 1-15, 2018.

DRESSELHAUS, M. *et al.* **Analytical applications of Raman spectroscopy**. 1. ed. Oxford: Blackwell Science, 1999. 492 p.

FENG, X. *et al.* Raman biophysical markers in skin cancer diagnosis. **J. Biomed. Opt.**, [s. l.], v. 23, n. 5, p. 1-10, 2018.

FURTADO, M. **Redes neurais artificiais: uma abordagem para sala de aula**. Ponta Grossa: Atena, 2019. v. 24. DOI 10.22533/at.ed.262191504. Disponível em: <http://educapes.capes.gov.br/handle/capes/432794>. Acesso em: 10 out. 2021.

GNIADÉCKA, M. *et al.* Melanoma diagnosis by Raman spectroscopy and neural networks: structure alterations in proteins and lipids in intact cancer tissue. **J. Invest. Dermatol.**, Copenhagen, v. 122, n. 2, p. 443-449, 2004.

GNIADÉCKA, M. *et al.* Diagnosis of basal cell carcinoma by Raman spectroscopy. **J. Raman Spectrosc.**, Copenhagen, v. 28, p. 125-129, 1997.

GOMES, G. **Novas funções de ativação em redes neurais artificiais multilayer perceptron**. 2010. Tese (Doutorado em Ciência de Computação) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, 2010.

HAASE, V. G.; LACERDA, S. S. Neuroplasticidade, variação interindividual e recuperação funcional em neuropsicologia. **Temas Psicol.**, Ribeirão Preto, v. 12, n. 1, p. 28-42, jun. 2004.

HAYKIN, S. S. **Redes neurais**. 2. ed. Porto Alegre: Bookman, 2001. 900 p.

HERCULANO-HOUZEL, S. The human brain in numbers: a linearly scaled-up primate brain. **Front. Hum. Neurosci.**, Rio de Janeiro, v. 3, p. 3-31, 2009.

HOMEM, W. L. **Apostila de machine learning**. Vitória: UFES, 2020. 46 p.

HUDSON, M.; HAGAN, M. T.; DEMUTH, H. B. **Neural network toolbox 7 user's guide**. [s. l.]: The MathWorks, Inc., 1992. 450 p. Disponível em: www.mathworks.com. Acesso em: 10 set. 2021.

HUDSON, M.; HAGAN, M. T.; DEMUTH, H. B. **Statistics toolbox user's guide**. [s. l.]: The MathWorks, Inc., 1993. 480 p. Disponível em: www.mathworks.com. Acesso em: 10 set. 2021.

JAIN, A. K.; MAO, J.; MOHIUDDIN, K. M. Artificial neural networks: a tutorial. **IEE Comput. Soc.**, Washington, v. 29, ed. 3, p. 31-44, 1996.

KRUEGER-BECK, E. *et al.* Potencial de ação: do estímulo à adaptação neural. **Fisioter. Mov.**, [s. l.], v. 24, n. 3, p. 535-547, 29 nov. 2022.

LEE, L. C.; LIONG, C. Y.; JEMAIN, A. A. Partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) for classification of high-dimensional (HD) data: a review of contemporary practice strategies and knowledge gaps. **Analyst**, [s. l.], v. 143, n. 15, p. 3526-3539, 2018.

LI, Q.; GAO, Q.; ZHANG, G. Classification for breast cancer diagnosis with Raman spectroscopy. **Biomed. Opt. Express**, [s. l.], v. 5, p. 2435-2445, 2014.

LIMA, A. F. *et al.* Discrimination of non-melanoma skin cancer and keratosis from normal skin tissue *in vivo* and *ex vivo* by Raman spectroscopy. **Vib. Spectrosc.**, [s. l.], v. 100, p. 141-141, 2019.

LIN, Y. *et al.* Label-free diagnosis of breast cancer based on serum protein purification assisted surface-enhanced Raman spectroscopy. **Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.**, [s. l.], v. 263, p. 1386-1425, 2021.

LOPES, A. C. *et al.* Aspectos moleculares da transmissão sináptica. **Medicina (Ribeirão Preto)**, Ribeirão Preto, v. 32, n. 2, p. 167-188, 1998. DOI 10.11606/issn.2176-7262.v32i2p167-188. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/rmrp/article/view/12692>. Acesso em: 12 dez. 2021.

LOPES, M. Towards Data Science. *In: Dimensionality reduction — Does PCA really improve classification outcome?* [s. l.], 2019. Disponível em: <https://towardsdatascience.com/dimensionality-reduction-does-pca-really-improve-classification-outcome-6e9ba21f0a32>. Acesso em: 12 ago. 2021.

LUI, H. *et al.* Real-time Raman spectroscopy for *in vivo* skin cancer diagnosis. **Cancer Res.**, Vancouver, v. 72, n. 10, p. 2491-2500, 2012.

LYNG, F. M. *et al.* Raman spectroscopy for screening and diagnosis of cervical cancer. **Anal Bioanal. Chem.**, [s. l.], v. 407, n. 27, p. 8279-8289, 2015.

MOHRI, M.; ROSTAMIZADEH, A.; TALWALKAR, A. **Foundations of machine learning**. 2. ed. Massachusetts: MIT Press, 2018. 488 p.

MOREIRA, C. Potencial de ação. **Rev. Cien. Elemen.**, Lisboa, v. 3, n. 4, p. 253, 2015.

NARAYANAMURTHY, V. *et al.* Skin cancer detection using non-invasive techniques. **RSV Adv.**, [s. l.], v. 8, p. 28095-28130, 2018.

NUNES, C. *et al.* Chemoface: a novel free user-friendly interface for chemometrics. **J. Braz. Chem. Soc.**, Lavras, v. 23, n. 11, p. 2003-2010, 2012.

PAUDEL, A.; RAIJADA, D.; RANTANEN, J. Raman spectroscopy in pharmaceutical product design. **Adv. Drug Deliv. Rev.**, [s. l.], v. 89, p. 3-20, 2015.

PENIDO, C. A. F. *et al.* Raman spectroscopy in forensic analysis: identification of cocaine and other illegal drugs of abuse. **J. Raman Spectrosc.**, [s. l.], v. 47, p. 28-38, 2016.

POLO, T. C. F.; MIOT, H. A. Use of ROC curves in clinical and experimental studies. **J. Vasc. Bras.**, [s. l.], v. 19, p. e20200186, 2020.

RABELO, D. S. *et al.* Desenvolvimento de sistemas computacionais utilizando aprendizagem baseada em problemas. **VII Congresso Brasileiro de Informática na Educação**, Fortaleza, p. 188, 2018.

REFAEILZADEH, P. *et al.* Cross Validation. *In: Encyclopedia of database systems*. [S. l.: s. n.], 2008. p. 532-538.

REINEHR, C. P. H.; BAKOS, R. M. Actinic keratoses: review of clinical, dermoscopic, and therapeutic aspects. **An. Bras. Dermatol.**, [s. l.], v. 94, n. 6, p. 637-657, 2019.

RODRIGUES, A. G.; GALZERANI, J. C. Espectroscopias de infravermelho, Raman e de fotoluminescência: potencialidades e complementaridades. **Rev. Bras. Ensino Fís.**, São Carlos, v. 34, n. 4, p. 637-657, 2012.

RUIZ, J. *et al.* Novel non-invasive quantification and imaging of eumelanin and DHICA subunit in skin lesions by Raman spectroscopy and MCR algorithm: improving dysplastic nevi diagnosis. **Cancers**, [s. l.], v. 14, n. 4, p. 1-14, 2022.

SALA, O. **Fundamentos da espectroscopia Raman e no infravermelho**. 2. ed. São Paulo: Editora UNESP, 2008. 280 p.

SANTANA, F. B. *et al.* Experimento didático de quimiometria para classificação de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho médio combinado com análise discriminante por mínimos quadrados parciais: um tutorial, parte V. **Quím. Nova**, [s. l.], v. 43, n. 3, p. 371-381, 2020.

SANTOS, D. M. *et al.* Influência do ruído produzido pelo sistema de detecção do sistema Raman na classificação de gasolina utilizando as técnicas lógica paraconsistente anotada de dois valores - LPA2V e análise de componente principal - PCA. **Anais do Encontro Nacional de Pós-Graduação**, [s. l.], v. 4, n. 1, 2020.

SILVA, D. Mundo educação. *In*: **Características físicas das ondas eletromagnéticas**. [s. l.], 2018. Disponível em: <https://mundoeducacao.uol.com.br/fisica/caracteristicas-das-ondas-eletromagneticas.htm>. Acesso em: 20 jan. 2022.

SILVA, I. N.; SPATTI, D. H.; FLAUZINO, R. A. **Redes neurais artificiais para engenharia e ciências aplicadas**. 2. ed. São Paulo: Artliber, 2010. 325 p.

SILVEIRA, F. L. *et al.* Discrimination of non-melanoma skin lesions from non-tumor human skin tissues *in vivo* using Raman spectroscopy and multivariate statistics. **Lasers Surg. Med.**, [s. l.], v. 47, n. 1, p. 6-16, 2015.

SMITH, E.; DENT, G. **Modern Raman spectroscopy – a practical approach**. [s. l.]: Wiley, 2019. 256 p.

SOUZA, F. B. *et al.* Intramuscular lactic acid assessment through Raman spectrography: new perspectives in sports medicine. **Rev. Bras. Med. Esporte**, São Paulo, v. 9, n. 6, p. 388-402, 2003.

UBNT. Medium. *In*: **Como o sinal wifi é propagado na natureza**. São Paulo, 2003. Disponível em: <https://medium.com/ubntbr/como-o-sinal-wifi-é-propagado-na-natureza-d87daef39575>. Acesso em: 20 jan. 2022.

VERGARA, W. R. H. Aplicações da simulação cognitiva na confiabilidade de sistemas homem-máquina. **XIV Encontro Nac. de Eng. de Produção**, Florianópolis, 2004.

WANG, J. *et al.* Simultaneous fingerprint and high-wavenumber fiber-optic Raman spectroscopy improves *in vivo* diagnosis of esophageal squamous cell carcinoma at endoscopy. **Sci. Rep.**, [s. l.], v. 5, p. 12957-12967, 2015.

WU, M. *et al.* Deep learning data augmentation for Raman spectroscopy cancer tissue classification. **Sci. Rep.**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 1-13, 2021.

ZHAO, J. *et al.* Using Raman spectroscopy to detect and diagnose skin cancer *in vivo*. **Dermatol. Clin.**, [s. l.], v. 35, n. 4, p. 495-504, 2017.

ZINK, B. S. Câncer de pele: a importância do seu diagnóstico, tratamento e prevenção. **Rev. Hosp. Univ. Pedro Ernesto**, [s. l.], v. 13, n. 5, p. 76-83, 2014.

ANEXO A

Script base utilizado na criação das RNAs

```

% Script generated by Neural Pattern Recognition app
% Created 20-Jan-2022 19:51:42
%
% This script assumes these variables are defined:
%
% espectros_trans - input data.
% nomal_tumor_cat_trans - target data.

x = espectros_trans';
t = nomal_tumor_cat_trans';

% Choose a Training Function

trainFcn = 'trainscg'; % Scaled conjugate gradient backpropagation.

% Create a Pattern Recognition Network
hiddenLayerSize = [10];
net = patternnet(hiddenLayerSize, trainFcn);

% Choose Input and Output Pre/Post-Processing Functions
% For a list of all processing functions type: help nprocess
net.input.processFcns = {'removeconstantrows','mapminmax'};

% Setup Division of Data for Training, Validation, Testing
% For a list of all data division functions type: help nndivision
net.divideFcn = 'dividerand'; % Divide data randomly
net.divideMode = 'sample'; % Divide up every sample
net.divideParam.trainRatio = 70/100;
net.divideParam.valRatio = 15/100;
net.divideParam.testRatio = 15/100;

% Choose a Performance Function
% For a list of all performance functions type: help nnperformance
net.performFcn = 'crossentropy'; % Cross-Entropy

% Choose Plot Functions
% For a list of all plot functions type: help nnplot
net.plotFcns = {'plotperform','plottrainstate','ploterrhist', ...
    'plotconfusion', 'plotroc'};

% Train the Network
[net,tr] = train(net,x,t);

% Test the Network
y = net(x);
e = gsubtract(t,y);
performance = perform(net,t,y)
tind = vec2ind(t);
yind = vec2ind(y);
percentErrors = sum(tind ~= yind)/numel(tind);

% Recalculate Training, Validation and Test Performance
trainTargets = t .* tr.trainMask{1};

```

```
valTargets = t .* tr.valMask{1};
testTargets = t .* tr.testMask{1};
trainPerformance = perform(net,trainTargets,y)
valPerformance = perform(net,valTargets,y)
testPerformance = perform(net,testTargets,y)

% View the Network
view(net)

% Plots
%figure, plotperform(tr)
%figure, plottrainstate(tr)
%figure, ploterrhist(e)
%figure, plotconfusion(t,y)
%figure, plotroc(t,y)

% Deployment
if (false)
    % Generate MATLAB function for neural network for application
    % deployment in MATLAB scripts or with MATLAB Compiler and Builder
    % tools, or simply to examine the calculations your trained neural
    % network performs.
    genFunction(net,'myNeuralNetworkFunction');
    y = myNeuralNetworkFunction(x);
end
if (false)
    % Generate a matrix-only MATLAB function for neural network code
    % generation with MATLAB Coder tools.
    genFunction(net,'myNeuralNetworkFunction','MatrixOnly','yes');
    y = myNeuralNetworkFunction(x);
end
if (false)
    % Generate a Simulink diagram for simulation or deployment with.
    % Simulink Coder tools.
    gensim(net);
end
```