

DETECCIÓN DE PATOLOGÍAS CELULARES EMPLEANDO VISIÓN ARTIFICIAL

ALEJANDRO MUÑOZ

Grupo de Percepción y Control Inteligente, Universidad Nacional de Colombia, Manizales.

GUSTAVO OSORIO

Grupo de Percepción y Control Inteligente, Universidad Nacional de Colombia, Manizales.

FLAVIO PRIETO

Grupo de Percepción y Control Inteligente, Universidad Nacional de Colombia, Manizales.

FABIOLA ANGULO

Grupo de Percepción y Control Inteligente, Universidad Nacional de Colombia, Manizales.

Recibido para revisión 12 de Julio de 2001, aceptado 12 de Septiembre de 2001, versión final recibida 30 de Septiembre de 2001

RESUMEN: El presente trabajo muestra los resultados obtenidos con los algoritmos desarrollados para la segmentación y caracterización de células del epitelio escamoso del cérvix mediante el procesamiento de imágenes. El propósito es construir una herramienta para el análisis citológico y que sirva para el prediagnóstico de anomalías que puedan presentarse a nivel del útero y cérvix como es el caso del cáncer de cuello uterino. Fue posible segmentar y caracterizar hasta un 85% de los núcleos en las imágenes analizadas.

PALABRAS CLAVES: Segmentación, Clasificación, Cáncer, Cérvix, Procesamiento de imágenes.

ABSTRACT: This paper shows the result obtained by means of the algorithms developed for segmentation and characterization of cells from the cervix squamous epithelium through image processing. The objective is to design and building a tool for the cytological analysis as well as for the pre-diagnosis of anomalies which can be observed at the uterus and cervix as during uterine neck cancer. It was possible the segmentation and characterization of up to 85% of the nuclei in the analyzed images

KEY WORDS: Segmentation, Classification, Cancer, Cervix, Image Processing.

1 INTRODUCCIÓN

Este trabajo se realizó al interior del Grupo de Percepción & Control Inteligente en la Universidad Nacional de Colombia, Sede Manizales, y dentro del proyecto que tiene como propósito desarrollar un sistema para el análisis de muestras a nivel del epitelio vaginal mediante el proceso digital de imágenes.

Recientemente se han observado desarrollos en dispositivos automáticos como apoyo al diagnóstico de citologías, e incluso se han empleado computadores en el estudio de muestras al microscopio de citologías ginecológicas para el diagnóstico de enfermedades virales y tumores. Trabajos más recientes permiten la transmisión de imágenes a través de una red de datos e incluso Internet.

Dentro de las diferentes tareas que se deben realizar en el análisis de citologías cervico-vaginales, uno de los primeros pasos es observar que porcentaje de células de las capas germinales llegan a la capa superficial, y para lograrlo se deben tener en cuenta diferentes parámetros (forma, tamaño y color) del núcleo y del citoplasma en cada una de las células analizadas. Estos parámetros también deben ser

empleados para determinar anomalías en la estructura celular, lo cual suministra información determinante para el diagnóstico de diversas enfermedades.

Basados en lo anterior, se desarrollaron algoritmos que realizan la segmentación y caracterización del núcleo y citoplasma de células, en imágenes al microscopio del epitelio escamoso del cérvix. Para las adquisición de las imágenes se utilizó una cámara JAVELIN SYSTEMS (JE3942-A) acoplada a un microscopio MEIJI TECNO con un lente 0.25 160/0.17 que entrega los datos a una tarjeta digitalizadora ZOLTRIX TV MAX. El tamaño máximo de las imágenes obtenidas es de 500x500 píxeles.

2 PREPROCESAMIENTO

Se realizaron pruebas con diferentes tipos de filtros suavizantes, con el fin de atenuar las componentes de alta frecuencia que no pertenecen a los contornos y que podrían causar problemas de detección. Posteriormente se aplicaron filtros detectores de bordes con el fin de encontrar las fronteras entre los núcleos y citoplasmas de las células.

2.1 Filtros Suavizantes

A continuación se describen los filtros suavizantes probados sobre las imágenes.

2.1.1 Filtro Promedio

La respuesta del filtro promedio es la media de todos los píxeles en el entorno de un punto central. Se obtiene mediante la convolución de la imagen con una máscara de tamaño arbitrario m en la que todos los coeficientes son 1 y se define por medio de la Ecuación 1, W es la matriz de pesos, e I es la imagen original. La respuesta está dada por la suma de los niveles de gris del entorno utilizado (tamaño de la máscara) dividida entre el número de píxeles de la máscara (González, 1996) (Haralick, 1993)

$$S = \frac{1}{m^2} \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^m w_{ij} i_{ij} \quad (1)$$

$$w_{ij} = 1 \quad \forall i, j = 1, \dots, m$$

2.1.2 Filtro de Mediana

El alisamiento por mediana es un caso particular del filtrado por estadísticos ordenados, donde los valores de los vecinos a un punto central se ordenan en una sucesión de acuerdo a sus niveles de gris de menor a mayor y el valor en el medio de la sucesión es el nuevo valor y se asigna al píxel central. Para un filtro de mediana de tamaño m por m , donde m es preferiblemente impar, el nivel de gris de salida S , será el nivel de gris del píxel de entrada G que cumpla con la Ecuación 2 (González, 1996) (Haralick, 1993) (Trucco, 1998) (Castleman, 1996).

$$S = \{G | G \geq (m^2 - 1)/2 \wedge G \leq (m^2 - 1)/2\} \quad (2)$$

2.1.3 Filtro de Kuwahara

Su objetivo principal es suavizar la imagen sin que sean difuminados los bordes de los objetos y sin que sean desplazados de su posición. Su implementación se hace regularmente con ventanas cuadradas, de dimensión $J * K$, donde J y K están determinados por la Ecuación 3 y L toma sólo valores enteros.

$$J = K = 4 * L + 1 \quad (3)$$

A su vez la ventana se subdivide en cuatro ventanas cuadradas cuya dimensión se obtiene mediante la Ecuación 4, y se ilustran en la Figura 1, para $L = 1$.

$$D = [(J+1)/2 * (K+1)/2] \quad (4)$$

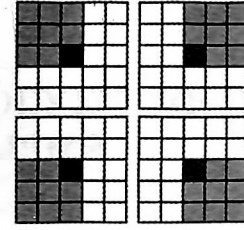


Figura 1. Ventanas para implementar el filtro de Kuwahara

En cada una de estas ventanas se halla el valor promedio de intensidad de los píxeles que la conforman y su desviación estándar. Al final, se da al píxel del centro de toda la máscara el valor de la media de la región que posee la menor desviación estándar (Montes, 2000).

2.1.4 Filtro Gaussiano

Este filtro utiliza la función de Gauss bidimensional para calcular los coeficientes de una máscara, como una aproximación discreta. La función Gaussiana bidimensional está dada por la Ecuación 5 (Haralick, 1993) (Trucco, 1998)

$$G(x, y) = \frac{1}{2\pi\sigma^2} e^{-\frac{x^2 + y^2}{2\sigma^2}} \quad (5)$$

En la Ecuación 6, se muestra la máscara de convolución para un filtro Gaussiano con una desviación estándar de 2.5

$$M = \begin{bmatrix} 0.0134 & 0.0170 & 0.0184 & 0.0170 & 0.0134 \\ 0.0170 & 0.0216 & 0.0235 & 0.0216 & 0.0170 \\ 0.0184 & 0.0235 & 0.0254 & 0.0235 & 0.0184 \\ 0.0170 & 0.0216 & 0.0235 & 0.0216 & 0.0170 \\ 0.0134 & 0.0170 & 0.0184 & 0.0170 & 0.0134 \end{bmatrix} \quad (6)$$

En la Figura 2, se muestran los resultados de aplicar sobre la imagen de una célula diferentes filtros suavizantes (Promedio, Mediana, Kuwahara y Gaussiano).

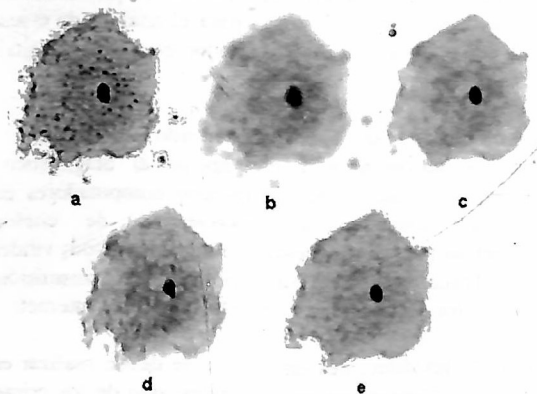


Figura 2. (a) Imagen Original. (b) Promedio. (c) Mediana. (d) Kuwahara. (E) Gaussiano.

De los resultados obtenidos se puede decir que el filtrado de mediana produce imágenes con mejores condiciones de homogeneidad, reducción de ruido y mayor contraste entre el núcleo, el citoplasma y el fondo. Con el filtro Kuwahara se logra un mayor realce de los niveles de gris de los núcleos sobre los de los citoplasmas, facilitando así la detección del contorno del núcleo, pero no mejora la homogeneidad de la textura, produciendo así muchas componentes no deseadas en la detección de los bordes.

2.2 Filtros Detectores de Bordes

Teniendo en cuenta que los contornos del núcleo y del citoplasma pueden ofrecer información suficiente para realizar la segmentación y caracterización de los mismos, se implementaron cinco tipos de filtros para la detección de los bordes.

Fundamentalmente un filtro detector de bordes analiza dos características: la pendiente y la dirección de la transición, estas son la magnitud y la dirección del vector gradiente

El detector de bordes examina cada píxel de la vecindad cuantificando la pendiente y la dirección de las transiciones de nivel de gris. Para una función $f(x,y)$, el gradiente de f en el punto de coordenadas (x,y) se define como se muestra en la Ecuación 7 (González, 1996) (Huralick, 1993) (Castleman, 1996).

$$\nabla f = \begin{bmatrix} \frac{\partial f}{\partial x} \\ \frac{\partial f}{\partial y} \end{bmatrix} \quad (7)$$

El módulo de este vector se define en la Ecuación 8.

$$|\nabla f| = \text{mag}(\nabla f) = \left[\left(\frac{\partial f}{\partial x} \right)^2 + \left(\frac{\partial f}{\partial y} \right)^2 \right]^{1/2} \quad (8)$$

2.2.1 Operador de Roberts

El operador de Roberts es un operador local diferencial. La magnitud del gradiente se calcula entonces mediante la aproximación de la Ecuación 9:

$$G(f(i,j)) = |f(i,j) - f(i+1,j+1)| + |f(i,j+1) - f(i+1,j)| \quad (9)$$

Puesto que G_x y G_y son aproximaciones de las derivadas parciales con respecto a x y y respectivamente, es sencillo calcularlas ya que usa sólo una ventana de tamaño 2×2 . Sus máscaras de convolución se muestran en la Ecuación 10 (González, 1996) (Trucco, 1998)

$$G_x = \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 0 & 1 \end{bmatrix} \quad G_y = \begin{bmatrix} 0 & 1 \\ -1 & 0 \end{bmatrix} \quad (10)$$

Una gran desventaja del operador de Roberts es que es muy sensible al ruido, ya que se usan muy pocos píxeles para aproximar el gradiente, además, la aproximación está desplazada del punto (i,j) al $(i+1/2, j+1/2)$.

2.2.2 Operador de Sobel

El detector de bordes de Sobel, analiza los bordes en dirección horizontal como vertical, y combina esta información en una sola medida. En la Ecuación 11 se muestran las máscaras empleadas para la detección de bordes en dos direcciones (González, 1996) (Trucco, 1998)

$$G_x = \begin{bmatrix} -1 & -2 & -1 \\ 0 & 0 & 0 \\ 1 & 2 & 1 \end{bmatrix}, \quad G_y = \begin{bmatrix} -1 & 0 & 1 \\ -2 & 0 & 2 \\ -1 & 0 & 1 \end{bmatrix} \quad (11)$$

Estas máscaras se convolucionan con la imagen. En cada píxel ahora tenemos dos medidas: s_1 y s_2 , que corresponde a las máscaras de fila y columna respectivamente, con estas medidas se halla la magnitud y la dirección del borde, que están definidos en la Ecuación 12.

$$M = \sqrt{s_1^2 + s_2^2} \quad D = \tan^{-1} \left[\frac{s_1}{s_2} \right] \quad (12)$$

2.2.3 Operador de Prewitt

El operador de Prewitt es similar al operador de Sobel, pero con diferentes coeficientes en las máscaras de convolución, como se muestra en la Ecuación 13 (González, 1996)

$$G_x = \begin{bmatrix} -1 & -1 & -1 \\ 0 & 0 & 0 \\ 1 & 1 & 1 \end{bmatrix}, \quad G_y = \begin{bmatrix} -1 & 0 & 1 \\ -1 & 0 & 1 \\ -1 & 0 & 1 \end{bmatrix} \quad (13)$$

La magnitud y la dirección del borde se definen de la misma forma que para el operador de Sobel descritos en la Ecuación 12.

2.2.4 Operador Laplaciano

El operador Laplaciano marca la presencia de un borde cuando la salida del operador realiza una transición por cero. En principio, las localizaciones de los cruces por cero pueden ser estimadas a nivel de subpíxeles usando interpolación lineal; pero los resultados pueden ser inexactos.

El Laplaciano de una función bidimensional $f(x,y)$ es una derivada de segundo orden y está definida por la Ecuación 14.

$$\nabla^2 f = \frac{\partial^2 f}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 f}{\partial y^2} \quad (14)$$

Se pueden utilizar aproximaciones discretas del operador Laplaciano para ser utilizadas como máscaras de convolución, en la Ecuación 15 se presentan tres aproximaciones discretas de máscaras de convolución (Haralick, 1993) (Trucco, 1998)

$$\begin{bmatrix} 0 & 1 & 0 \\ 1 & -4 & 0 \\ 0 & 1 & 0 \end{bmatrix} \quad \begin{bmatrix} 1 & 1 & 1 \\ 1 & -8 & 1 \\ 1 & 1 & 1 \end{bmatrix} \quad \begin{bmatrix} -1 & 2 & -1 \\ 2 & -4 & 2 \\ -1 & 2 & -1 \end{bmatrix} \quad (15)$$

2.2.5 Laplaciano de gaussiano

Es una técnica de detección de bordes basada en los cruces por cero de la segunda derivada, explora el hecho de que un borde de salto corresponde a un cambio brusco de la función de la imagen. La primera derivada de la función de la imagen debe tener un extremo en la posición correspondiente a un borde en la imagen, y la segunda derivada debe ser cero en la misma posición. Sin embargo, es mucho más fácil y preciso encontrar un cruce por cero que un extremo.

El punto crucial es calcular la segunda derivada de una forma robusta. Una posibilidad es suavizar la imagen primero (para reducir ruido) y después calcular la segunda derivada. Cuando se selecciona un filtro de alisamiento se deben cumplir dos criterios: debe ser suave y de banda limitada para reducir el número de frecuencias en las que puede producirse el cambio y segundo que la respuesta sea casi puntual. Aunque estos dos criterios entran en conflicto, la distribución que optimiza simultáneamente ambos es la distribución gaussiana definida en la Ecuación 16

$$LoG(x, y) = -\frac{1}{\pi\sigma^4} \left[1 - \frac{x^2 + y^2}{2\sigma^2} \right] e^{-\frac{x^2 + y^2}{2\sigma^2}} \quad (16)$$

Se pueden utilizar aproximaciones discretas del filtro Laplaciano de Gaussiano para ser utilizadas como máscaras de convolución, teniendo en cuenta la desviación [2]. En la Tabla 1 se ilustra la máscara de convolución utilizada para implementar el filtro Laplaciano de Gaussiano con $\sigma = 2.5$.

Tabla 1. Máscara de convolución 7 x 7 para el filtro Laplaciano de Gaussiano

0.0032	0.0024	0.0016	0.0012	0.0016	0.0024	0.0032
0.0024	0.0008	-0.0010	-0.0017	-0.0010	0.0008	0.0024
0.0016	-0.0010	-0.0035	-0.0046	-0.0035	-0.0010	0.0016
0.0012	-0.0017	-0.0046	-0.0058	-0.0046	-0.0017	0.0012
0.0016	-0.0010	-0.0035	-0.0046	-0.0035	-0.0010	0.0016
0.0024	0.0008	-0.0010	-0.0017	-0.0010	0.0008	0.0024
0.0032	0.0024	0.0016	0.0012	0.0016	0.0024	0.0032

En la Figura 3 se muestran los resultados obtenidos al aplicar los operadores de Roberts, Sobel, Prewitt, Laplaciano y Laplaciano de Gaussiano a una imagen después de ser suavizada empleando un filtro de mediana.

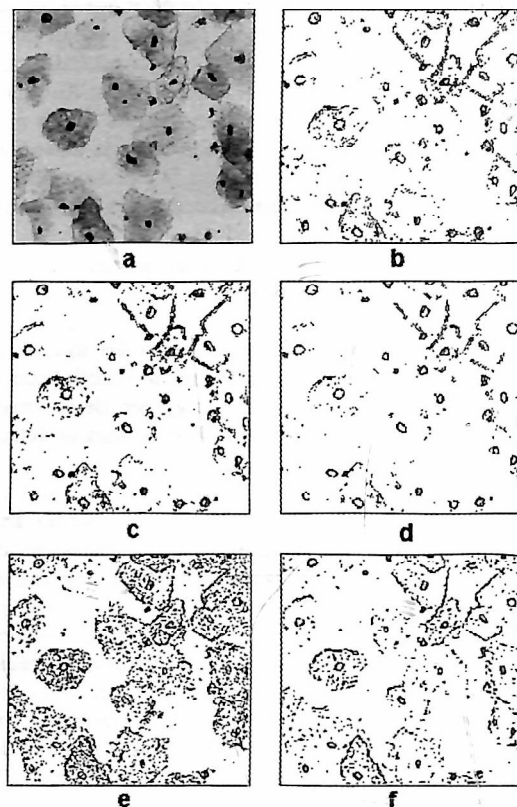


Figura 3. (a) Imagen original. (b) Roberts. (c) Sobel. (d.) Prewitt. (e) Laplaciano. (d) Laplaciano de Gaussiano.

3 SEGMENTACIÓN

El objeto de esta etapa es separar y etiquetar diferentes regiones en la imagen, para este caso son de interés el núcleo y el citoplasma. Para extraer esta información se hace uso de algoritmos para la detección de bordes basados en la detección de cambios bruscos de intensidad dentro de la imagen.

3.1 Análisis de Bordes

La siguiente etapa en el proceso consiste en determinar cuales componentes de la imagen de bordes corresponden a los núcleos. Para esto se implementó un algoritmo basado en la conectividad que agrupa todos los elementos de borde pertenecientes a un mismo contorno y un clasificador para determinar si los contornos pertenecen a los núcleos de la imagen.

3.1.1 Códigos de Cadena

Los códigos de cadena son usados para representar la frontera sobre la base de un conjunto de segmentos de una longitud y dirección específica, conectados entre sí, por este método se analizaron todos los puntos de los bordes de la imagen, reuniendo los que estuvieran conectados en conjuntos, para formar una región.

Esta representación está basada en segmentos de 8 direcciones, codificadas partiendo de 0 (dirección horizontal-derecha) y aumentando en sentido anti-horario como se ilustra en la Figura 4 (González, 1996)

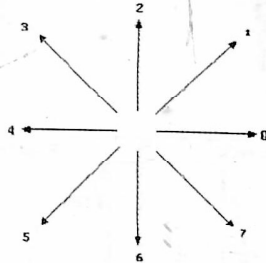


Figura 4. Direcciones utilizadas para codificar una frontera

3.1.2 Clasificador

Posteriormente se calculó el tamaño (Número de píxeles) y la dispersión de las distancias de los puntos que conforman cada contorno hallado respecto a su centroide.

El centroide se halla sumando todas las posiciones en x y y de los píxeles de una región y dividiendo los resultados entre el número de píxeles de cada región. La Ecuación 17 muestra como calcular el centroide de una región, donde N es el número de píxeles que conforman el contorno y (Cx, Cy) el centroide del contorno.

$$Cx = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N x_i \quad Cy = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N y_j \quad (17)$$

La dispersión se obtiene a partir de la ecuación 18, donde D es el promedio de todas las distancias de una región, i es cada uno de los puntos de una región y D_i es la distancia entre cada uno de los puntos de una región y el centroide.

$$Sc = \frac{1}{N} \sqrt{\sum_{i=1}^N (D_i - D)^2} \quad (18)$$

Luego las características de una región son comparadas con un umbral. El umbral para la característica del tamaño es de 80 y para la dispersión es de 2.5. De esta manera aquellos elementos que tengan un tamaño mayor a 80 y una dispersión menor que 2.5 serán clasificados como núcleos.

En la Figura 5 se muestra la distribución de las clases dentro del clasificador. Cada clase está representada por un punto que tiene coordenadas (tamaño, dispersión). Los círculos representan los elementos que han sido clasificados como núcleos y los cuadros representan el ruido. Las líneas indican el valor del umbral para clasificar un contorno como núcleo.

La imagen resultante entrega la ubicación aproximada de los posibles núcleos. Debido a que los contornos obtenidos no son una buena representación de los límites existentes, se implementó un algoritmo que realiza el análisis de cada uno mediante el trazo de perfiles. A continuación se realiza la descripción del proceso realizado a los contornos obtenidos.

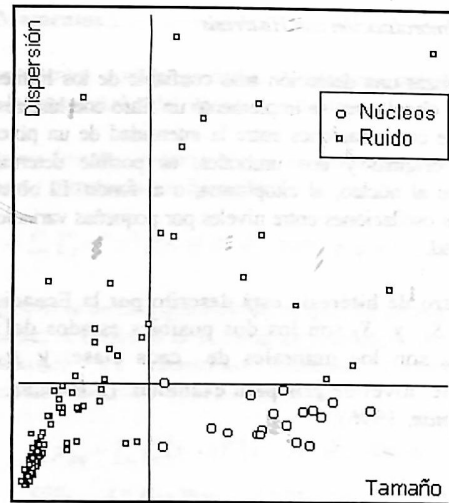


Figura 5. Distribución de clases.

En la Figura 6, se puede observar el resultado de aplicar el proceso descrito a la imagen de la Figura 3d.

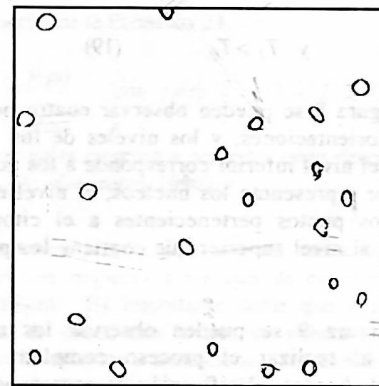


Figura 6. Contornos clasificados como núcleos.

3.2 Análisis de Núcleos

3.2.1 Perfiles

Los perfiles son cortes longitudinales a través del centroide de cada contorno midiendo la intensidad de los píxeles en la imagen original. Estos cortes permiten apreciar los cambios bruscos de intensidad que hay entre el núcleo y el citoplasma de las células, como se muestra en la figura 7, donde A y B delimitan el perfil y C es el centro del núcleo.

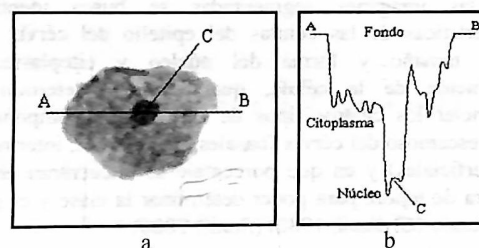


Figura 7. (a). Perfil A-B. (b). Intensidades en el perfil A-B

3.2.2 Umbralización con Histéresis

Para realizar una detección más confiable de los límites entre núcleo y citoplasma, se implementó un filtro con histéresis. Por medio de comparaciones entre la intensidad de un píxel en la imagen original y dos umbrales, es posible determinar si pertenece al núcleo, al citoplasma, o al fondo. El objetivo es evitar las oscilaciones entre niveles por pequeñas variaciones de intensidad.

El filtro de hitéresis está descrito por la Ecuación 19, donde S_0 y S_1 son los dos posibles estados del filtro, T_1 y T_0 son los umbrales de cada clase y $f(x,y)$ es siguiente nivel de gris para examinar (Bassmann, 1995) (Castleman, 1996).

Si

$$f(x,y) \in S_0, \quad f(x,y) \in S_1 \Leftrightarrow f(x,y) > T_1$$

Si

$$f(x,y) \in S_1, \quad f(x,y) \in S_1 \Leftrightarrow f(x,y) < T_0$$

$$\text{y } T_1 > T_0 \quad (19)$$

En la Figura 8 se pueden observar cuatro perfiles en diferentes orientaciones, y los niveles de los filtros de histéresis, el nivel inferior corresponde a los puntos más oscuros que representan los núcleos, el nivel del medio contiene los puntos pertenecientes a el citoplasma y finalmente el nivel superior que contiene los puntos del fondo.

En la Figura 9 se pueden observar los resultados obtenidos al realizar el proceso completo (filtrado, detección de bordes, clasificación de contornos, análisis de perfiles) en imágenes de células aisladas. Las regiones están limitadas por los puntos donde la intensidad cambia de nivel.

4 CARACTERIZACIÓN

La caracterización representa el contorno de la célula por métodos como el análisis de la firma, los momentos, análisis de fisher y prueba de correlación para buscar relaciones que muestren características de las célula

En las imágenes segmentadas se busca identificar características de las células del epitelio del cérvix tales como: tamaño y forma del núcleo y citoplasmas y pignoración de la célula, que permitan determinar y diferenciar los cuatros tipos de células que componen el tejido escamoso del cérvix (basales, parabasales, intermedias y superficiales) y en que porcentaje se encuentran en una muestra de tejido, para poder determinar la clase y el grado de la lesión (Graham, 1982) (Ranzi, 2000)

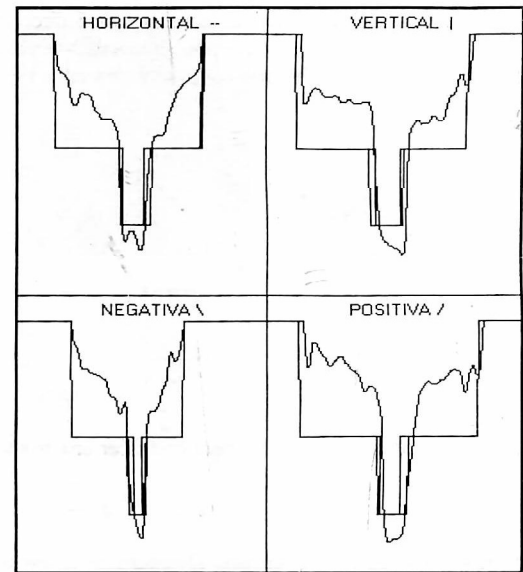


Figura 8. Perfiles y filtros con histéresis.

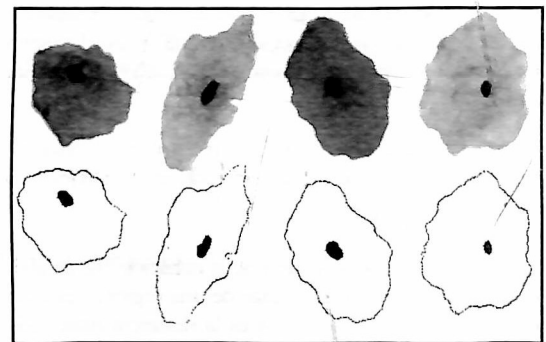


Figura 9. Regiones Segmentadas.

En la Figura 10 se muestra un ejemplo en el que aparecen células de la capa basal (interna) en la capa superficial (externa).



Figura 10. Células de la capa basal en la capa superficial.

4.1 Firma

Una firma es una representación funcional unidimensional de una frontera dibujando la distancia desde el centroide a la frontera en función del ángulo, el objetivo es reducir la frontera a una representación unidimensional, que en principio será más fácil de describir que la frontera original bidimensional.

La distancia del centroide a cualquier punto (x_i, y_i) del contorno se halla por medio de la Ecuación 20, donde Cx y Cy son las coordenadas del centroide descritas en la Ecuación 17 (González, 1996)

$$D = \sqrt{(Cx - x_i)^2 + (Cy - y_i)^2} \quad (20)$$

La Figura 11 muestra el proceso para hallar la firma a partir del contorno de una célula y los histogramas de distancias de la firma del núcleo y del citoplasma.

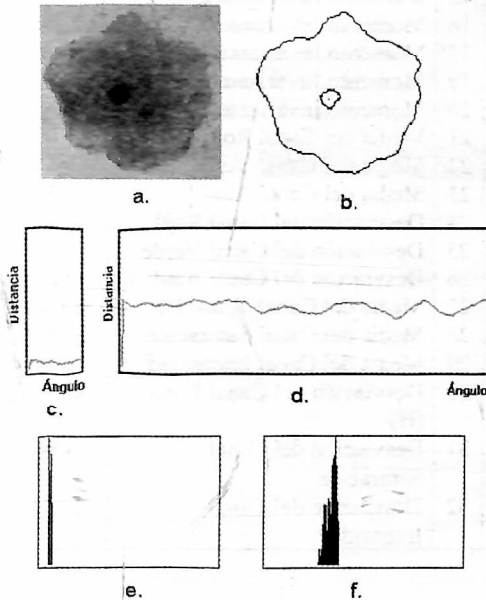


Figura 11. Firma. (a)Imagen original. (b) Contorno del núcleo y citoplasma. (c)Firma del núcleo. (d)Firma del citoplasma. (e)Histograma de distancias del núcleo. (f)Histograma de distancias del citoplasma.

4.2 Momentos

Los momentos son propiedades estadísticas aplicadas para medir las propiedades del histograma de distancias de la firma.

Dada una función continua $f(x, y)$ se define su momento de orden $p+q$ como indica la Ecuación 21.

$$m_{pq} = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} x^p y^q f(x, y) dx dy \quad \text{para } p, q = 0, 1, 2, \dots \quad (21)$$

El problema de esta descripción es que, en principio, no es invariante. Centrando el sistema de referencia en el objeto se obtienen los momentos centrales (invariantes a traslaciones) descritos en la Ecuación 22.

$$\mu_{pq} = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} (x - \bar{x})^p (y - \bar{y})^q f(x, y) dx dy$$

con, $\bar{x} = m_{10}/m_{00}$ $\bar{y} = m_{01}/m_{00}$ (22)

donde \bar{x} y \bar{y} son las coordenadas del centroide o centro de masas del objeto. Para imágenes digitales las integrales se convierten en sumas.

Los momentos centrales normalizados, notados η_{pq} se definen mediante la Ecuación 23.

$$\eta_{pq} = \frac{\mu_{pq}}{\mu_{00}^\gamma} \quad \text{con } \gamma = (p + q)/2 + 1. \quad (23)$$

Los principales momentos centrales están descritos en la Ecuación 24 (González, 1996)

Los momentos μ_{20} y μ_{02} son los momentos de inercia del objeto con respecto a los ejes de coordenadas x e y , respectivamente. Es importante notar que a partir de los momentos de orden dos y tres se pueden obtener siete momentos invariantes a traslaciones, rotaciones y escalado, definidos en la Ecuación 25.

$$\begin{aligned} \mu_{00} &= m_{00} & \mu_{11} &= m_{11} - \bar{x}\bar{y}m \\ \mu_{10} &= 0 & \mu_{30} &= m_{30} - 3\bar{x}m_{20} + 2\bar{x}^2m_{10} \\ \mu_{01} &= 0 & \mu_{12} &= m_{12} - 2\bar{y}m_{11} - \bar{x}m_{02} + 2\bar{y}\bar{x}m_{10} \\ \mu_{02} &= m_{20} - \bar{x}m_{10} & \mu_{21} &= m_{21} - 2\bar{x}m_{11} - \bar{y}m_{20} + 2\bar{x}\bar{y}m_{01} \\ \mu_{20} &= m_{02} - \bar{y}m_{01} & \mu_{03} &= m_{03} - 3\bar{y}m_{02} + 2\bar{y}^2m_{01} \end{aligned} \quad (24)$$

$$\phi_1 = \eta_{20} + \eta_{02}$$

$$\phi_2 = (\eta_{20} - \eta_{02})^2 + 4\eta_{11}^2$$

$$\phi_3 = (\eta_{30} + 3\eta_{12})^2 + (3\eta_{21} - \eta_{03})^2$$

$$\phi_4 = (\eta_{30} + \eta_{12})^2 + (\eta_{21} + \eta_{03})^2$$

$$\phi_5 = (\eta_{30} - 3\eta_{12})(\eta_{30} + \eta_{12})[(\eta_{30} + \eta_{12})^2 - 3(\eta_{21} + \eta_{03})^2] + (3\eta_{21} + \eta_{03})(\eta_{21} + \eta_{03})[3(\eta_{30} + \eta_{12})^2 - (\eta_{21} + \eta_{03})^2]$$

$$\phi_6 = (\eta_{20} - \eta_{02})[(\eta_{30} + \eta_{12})^2 - (\eta_{21} + \eta_{03})^2] + 4\eta_{11}(\eta_{30} + \eta_{12})(\eta_{21} + \eta_{03})$$

$$\phi_7 = (3\eta_{12} - \eta_{30})(\eta_{30} + \eta_{12})[(\eta_{30} + \eta_{12})^2 - 3(\eta_{21} + \eta_{03})^2] + (3\eta_{12} - \eta_{30})(\eta_{21} + \eta_{03})[3(\eta_{30} + \eta_{12})^2 - (\eta_{21} + \eta_{03})^2]$$

(25)

4.3 Índices de Fisher y prueba de Correlación

Los índices de Fisher, evalúan la capacidad discriminante de una variable característica y cuantifica la separación interclases y la fiabilidad interna de las clases

Los índices de Fisher se obtienen de la Ecuación 26.

$$F_{ij} = \frac{(m_i - m_j)^2}{\sigma_i^2 + \sigma_j^2} \text{ para todo } j > i \quad (26)$$

donde ij es la combinatoria de clases; m_i , m_j son las medias y σ_i^2 , σ_j^2 son las varianzas de las clases i y j correspondientes [8, 9].

Este proceso se realiza para cada característica y se promedia, obteniéndose un índice de Fisher particular. De esta forma, tendremos n índices de Fisher para n características. Estos índices proveen la información de cuales características son las más discriminantes. Entre más alto, más discriminante la característica.

El análisis de Fisher discrimina grupos de imágenes de una misma clase y separa imágenes de diferentes clases. Las imágenes son proyectadas de un espacio N -dimensional a un espacio $C-1$ dimensional (donde N es el número de clases de imágenes).

Se analizaron 32 características de las cuales se obtuvieron 15 con valores altos en los índices de Fisher, mostradas en la Tabla 2.

Considerando únicamente las características discriminantes entregadas por los índices de Fisher, se obtiene la Figura 11, donde cada uno de los cuatro círculos agrupa los puntos que pertenecen a una clase diferente de células cervicales.

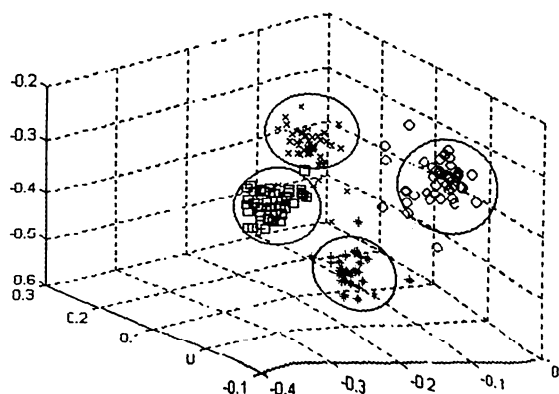


Figura 11. Discriminantes de Fisher para 15 características.

Tabla 2. Características discriminantes según índices de Fisher.

	Característica	Índice Fisher
1	Media de la firma del núcleo	4.88
2	Desviación de la firma del núcleo	---
3	Momento 0_1	---
4	Momento 1_0	---
5	Momento 1_1	---
6	Momento 2_0	1.24
7	Momento 0_2	1.32
8	Momento 3_0	---
9	Momento 0_3	---
10	Momento 1_2	---
11	Momento 2_1	---
12	Área de la curva bajo la firma	3.34
13	Área en Píxeles	3.48
14	Momento Invariante 1	---
15	Momento Invariante 2	---
16	Momento Invariante 3	---
17	Momento Invariante 4	---
19	Momento Invariante 6	---
20	Momento Invariante 7	---
21	Media del Canal Rojo	1.09
22	Media del Canal Verde	2.45
23	Media del Canal Azul	1.71
24	Desviación del Canal Rojo	---
25	Desviación del Canal Verde	---
26	Desviación del Canal Azul	2.83
27	Media del Canal Tono (H)	14.86
28	Media del Canal Saturación	5.097
29	Media del Canal Intensidad	3.73
30	Desviación del Canal Tono (H)	472.3
31	Desviación del Canal Saturación	3.06
32	Desviación del Canal Intensidad	27.18

5 RESULTADOS

Se obtuvieron los siguientes resultados analizando 20 imágenes citológicas que cuentan con un total de 264 núcleos. En el proceso de segmentación se emplearon los filtros de Mediana, Promedio, Gaussiano y Kuwahara combinado con los operadores de Roberts, Prewitt, Sobel, Laplaciano y Laplaciano de Gaussiano para realizar la detección de bordes en las diferentes componentes de color RGB y en la imagen de intensidad (I). Los resultados se muestran en la Tabla 3.

En la Tabla 4 se indican los porcentajes de falsos aciertos (elementos clasificados erróneamente como núcleos) hallados durante el proceso de segmentación de núcleos. Los porcentajes fueron calculados para aquellas combinaciones que presentaron mayor eficiencia en la detección de núcleos.

Tabla 3. Porcentaje de detección de núcleos.

Filtro Suavizante	Detectores de Bordes	R (%)	G (%)	B (%)	I (%)
Mediana	Sobel	77,4	66,0	73,5	73,5
	Prewitt	71,0	70,4	66,5	67,7
	Roberts	76,4	65,2	62,8	68,3
	Laplaciano	59,4	54,3	53,7	58,0
	LoG	85,2	84,0	81,6	84,8
Gaussiano	Sobel	69,2	62,0	64,6	68,9
	Prewitt	69,5	58,4	50,9	55,0
	Roberts	51,5	67,0	67,4	68,6
	Laplaciano	71,4	71,0	64,7	67,6
	LoG	68,7	81,0	71,0	77,3
Kuwahara	Sobel	78,1	46,4	55,7	64,2
	Prewitt	67,3	61,0	68,4	68,8
	Roberts	72,5	22,9	34,4	35,6
	Laplaciano	43,1	31,5	30,7	31,6
	LoG	32,9	77,4	77,9	85,4
Pasabajas	Sobel	82,0	62,6	63,5	66,9
	Prewitt	71,0	58,7	48,3	55,8
	Roberts	49,4	66,1	63,0	69,5
	Laplaciano	70,1	63,3	54,8	62,9
	LoG	63,0	77,8	71,5	75,6
LoG		75,0	76,3	73,6	78,7

Tabla 4. Porcentajes de falsos aciertos

Filtrado	Bordes	R(%)	G(%)	B(%)	I(%)
Mediana	LoG	4.63	4	4	3.29
Kuwahara	LoG	-----	-----	-----	3.64
LoG	-----	5.73	7.69	5.71	6.38

Los resultados obtenidos en la etapa de caracterización de las clases de células analizadas se muestran en la Tabla 5 en donde se tiene en cuenta sólo las características discriminantes y se comparan con la información entregada por la matriz de covarianza para cada clase, se encuentra alta correlación para ciertas características por cada clase.

Tabla 5. Características Dependientes.

Clase	Características
Parabasal	1, 7, 6, 12, 13, 26, 28, 31
Intermedia	1, 6, 7, 12, 13, 26, 32
Superficial	1, 12, 13
Neoplásica AG	1, 6, 7, 12, 13, 26

6 CONCLUSIONES

Fue posible segmentar alrededor del 85% de los núcleos existentes en las imágenes analizadas, empleando la técnica propuesta.

Este proceso está relacionado con la forma y el tamaño de las células en las imágenes, que a su vez depende de la etapa de adquisición, por lo tanto es necesario controlar

parámetros tales como el aumento y la distancia en el sistema.

La combinación entre los filtros suavizantes de mediana y kuwahara, con el detector de bordes Laplaciano de Gaussiano, presentó la mejor respuesta, logrando los mayores índices de segmentación de núcleos.

Debido a que las imágenes no son homogéneas, es necesario emplear algoritmos que involucren umbrales dinámicos.

Las diferentes componentes de color, tanto en RGB como en HSI, juegan un factor importante en la extracción de información referente a la estructura de las células ya que algunas de estas componentes pueden atenuar o realzar regiones de las células.

Debido a la complejidad de las imágenes y a la poca homogeneidad que tiene la superficie de las células es necesario optimizar el desempeño de los algoritmos de crecimiento por regiones.

El análisis de los índices de Fisher permitió establecer cuales eran las características que ofrecían la mayor información discriminante. Se establecieron quince características: Media de la firma del núcleo, Momento 2_0, Momento 0_2, Área de la curva bajo la firma, Área en Píxeles, Media del Canal Rojo, Media del Canal Verde, Media del Canal Azul, Desviación del Canal Azul, Media del Canal Tono (H), Media del Canal Saturación, Media del Canal Intensidad, Desviación del Canal Tono (H), Desviación del Canal Saturación y Desviación del Canal Intensidad.

Empleando el análisis multivariable discriminante de Fisher fue posible obtener una transformación lineal que produce un espacio separable para las cuatro clases estudiadas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento a la Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales, al Grupo de Investigación en Cáncer de Cuello Uterino y Mama de la Universidad de Caldas, al Ing. Jorge Iván Arroyave y al Ing. Yesid Fernando Sossa por la colaboración prestada en la realización del presente trabajo.

REFERENCIAS

- Bassmann, H. and Besslich, P., *Ad Oculos: Digital Image Processing*. International Thomson Computer Press. 1995.
- Castleman, K., *Digital Image Processing*. Prentice Hall. 667 pág. New Jersey, 1996.
- González R. and Woods, R., *Tratamiento digital de imágenes*. Addison-Wesley/Díaz de Santos. 1996.
- Graham, R., *Symposium on premalignant cervical lesions*. IV. Reserve cell hyperplasia, basal cell hyperplasia and

- dysplasia. *Acta Cytol.*, 5: 150, 1961. Citado por: Takahashi, Masayoshi. *Atlas Color Citología del Cáncer*. Segunda Edición. Editorial Medica Panamericana. Viamonte 2164 Buenos Aires. ISBN 950-06-2121-5. 1982.
- Harralick, R. and Shapiro, L., *Computer and Robot Vision*. Addison-Wesley. 1993.
- Montes, J. y Ramírez, J., *Sistema para la Segmentación de Imágenes al Microscopio del Epitelio Poliestratificado Vaginal*. Universidad Nacional de Colombia. 2000.
- Maravall, D., *Reconocimiento de formas y visión artificial*. Wilmington, D., USA: Addison-Wesley Iberoamericana. 1994.
- Ranzi, S., Vinay, K. y Tucker, C., *Patología estructural y funcional*. 6 ed. México: Mc Graw Hill Interamericana, 2000.
- Trucco, E. and Verri, A., *Introductory Techniques for 3-D Computer Vision*. Prentice Hall. 1998.
- Yambor S., *Analysis Of PCA-Based And Fisher Discriminant - Based Image Recognition Algorithms* [online]. Technical Report. Fort Collins (Colorado). Colorado State University, July 2000. Available from Internet:
<URL:<http://www.cs.colostate.edu/~vision/html/project/s/yambor/thesis.htm>>