# Segmentación y reconocimiento de patrones en imágenes de histología

Javier Rojas

***Abstract*— Este artículo hace una revisión sobre las técnicas involucradas en el procesamiento de imágenes de histología; varios de los problemas que se presentan en la tarea son explorados con cierta profundidad, como la conexión de bordes y la segmentación global de la imagen. En cada etapa se describen someramente los métodos usados y se muestran algunos casos de uso.**

***Index Terms*— binarización, K-*means*, SVM, histología, transformada Hough, morfología matemática, detección de bordes.**

## I. Introducción

El análisis de imágenes histológicas ha sido tradicionalmente desempeñado por un especialista en el área con un entrenamiento prolongado. Dentro de este tipo de imágenes las imágenes patológicas representan un problema mayúsculo debido a la amplia gama de particularidades que son usadas en la lectura de una placa microscópica para hacer diagnósticos. De manera general, el especialista busca identificar formas como células, glándulas, núcleos, y hallar ciertas características relativas a estos elementos: forma, cantidad, área ocupada, orientación, y otros atributos.

La información que provee este análisis es de relevancia en el diagnóstico de múltiples patologías pero requiere, además del entrenamiento, una enorme cantidad de tiempo en la revisión de cada placa o imagen. Por otra parte, este análisis tiene un alto componente de subjetividad y requiere un entrenamiento particular de la memoria visual que le permita al especialista la comparación de una lectura con las practicadas anteriormente. Estos motivos justifican la búsqueda de una manera sistemática de procesar estas imágenes. La posibilidad de proveer medios automáticos o semiautomáticos que hagan más sencillo el proceso de lectura es importante, ya que se elimina en gran medida la posibilidad de error y la variabilidad que introduce cada especialista en el resultado del análisis.

En la práctica son importantes datos como la cantidad de elementos en una imagen, su forma o aún la cantidad de objetos diferentes distinguibles en la misma. El procesamiento automático de este tipo de imágenes tiene una gran cantidad de aplicaciones: ayuda en tareas de diagnóstico, estudios de ADN y proteínas, procesamiento masivo de imágenes de microscopía, entre otros.

El análisis automático o semiautomático de imágenes de histología plantea varios retos técnicos respecto al procesamiento necesario, ya que se presenta una gran variabilidad entre las imágenes a analizar [1] debido a factores como:

- Iluminación no homogénea.
- Oclusión de objetos.
- Variación en la forma, el tamaño y la orientación de los objetos.
- Variación de intensidades debido a factores como la inhomogeneidad en el nivel de tinción.

Debido a estas características, los sistemas de análisis de imágenes de microscopía generalmente plantean enfoques híbridos en el área de segmentación de imágenes y reconocimiento de patrones para resolver el problema particular que enfrentan.

En la mayoría de los casos el esquema general de trabajo para analizar una imagen de histología es el mismo:

- Hacer preprocesamiento a la imagen para disminuir el ruido y suavizar los bordes de los objetos buscados.
- Hacer una clasificación inicial de la imagen, buscando diferenciar de manera aproximada los distintos objetos de la imagen.
- Identificar bordes o contornos de los objetos de interés.
- Segmentar los objetos usando la información obtenida.

Debido a la particularidad de cada problema, los métodos usados en cada fase difieren considerablemente, pasando por aplicaciones de teoría de conjuntos, filtros de imágenes, métodos de segmentación como *levelsets* o *watershed*, métodos de aprendizaje computacional y otras técnicas.

La aplicación del esquema general ya presentado es prácticamente una metodología de trabajo. Una gran cantidad de investigaciones siguen esta orientación [1]–[5], que por demás es bastante directa y sencilla (a nivel general).

El artículo se estructura de la siguiente manera: en la sección II se presentan varios métodos de preprocesado de imágenes, con énfasis en aplicaciones de morfología matemática. En la sección III se resumen varias técnicas usadas para hacer preclasificación de la imagen, usando la intensidad (el color) como referencia. Las secciones IV y V presentan varios métodos de detección y conexión de bordes, útiles para identificación y reconstrucción de formas. Finalmente, la sección VI presenta métodos para hacer segmentación de objetos particulares.

## II. Preprocesamiento de la imagen

### A. Filtros «clásicos»

En el área de procesamiento de imágenes hay una gran cantidad de operaciones o filtros con efectos muy específicos sobre la imagen aplicada; actualmente son la parte «mecánica» de los trabajos en el área, pero no por ello menos importante. Son la solución más directa para retocar una imagen antes de intentar cualquier proceso de segmentación.

Cód. 256523

De nuevo, las operaciones y transformaciones pertinentes dependen en gran medida del problema. En [6] se parte de imágenes de color, a las que se aplican operaciones de aumento de contraste, binarización, operadores morfológicos y un filtro de mediana con el objetivo de entregar una imagen suave al algoritmo de segmentación (una red neuronal). En [2], se aplica a la imagen una serie de filtros (gaussiano, diferencia de imágenes, gaussiano, normalización) para resaltar los contornos de las células que va a segmentar.

### B. Morfología matemática

Una técnica muy usada en procesamiento de imágenes es el uso de morfología matemática; con definiciones sencillas basadas en teoría de conjuntos es posible suavizar imágenes, representar formas, relaciones de vecindad o jerarquía, y más. La mayor parte de las operaciones de morfología matemática se hacen sobre imágenes binarias (imágenes de profundidad de color de 1 bit), vistas como conjuntos susceptibles de ser operados.

*1) Definiciones:* La *dilación* es una operación útil para llenar huecos pequeños en una imagen, usando un *elemento estructurante*, que puede verse como otra imagen. Formalmente, la dilación se define de acuerdo a (1)

$$X \oplus B = \{p \in E^2 : p = x + b, x \in X \text{ y } b \in B\} \quad (1)$$

En donde $X$ es el conjunto de pixeles de la imagen, $B$ es el conjunto de pixeles del elemento estructurante, $\oplus$ simboliza la operación de dilación, y $E^2$ es el espacio (discreto) de todos los posibles puntos. El efecto visual de una dilación es ensanchar los bordes de $X$, llenando los huecos pequeños.

La *erosión* (simbolizada por $\ominus$) es la operación «opuesta» a la dilación. El resultado de esta operación es un subconjunto de $X$. Su definición se da en (2)

$$X \ominus B = \{p \in E^2 : p + b \in X, \forall b \in B\} \quad (2)$$

El efecto de esta operación sobre una imagen binaria es algo similar a eliminar los pixeles del borde de la misma. Se usa para descomponer un objeto grande y complejo en varios objetos más sencillos. Otro uso muy común es eliminar secciones aisladas y de área insignificante de la imagen.

Una aclaración importante acerca de las definiciones es la definición de suma de dos elementos de un conjunto. Para el caso actual, $p+b$ es la suma sobre los índices de los puntos $p$ y $b$ de la imagen y el elemento estructurante, respectivamente; por ejemplo si $p = (1, 2)$ y $b = (-1, 3)$, entonces $p + b = (0, 5)$.

En ambas operaciones es clave el elemento estructurante usado. Su tamaño, y otras propiedades como la simetría son las que determinan la magnitud y el efecto general de la aplicación de estos operadores.

*2) Morfología de área:* una aproximación diferente es la propuesta por Acton *et. al.* [8], en la que el suavizado se hace mediante operaciones morfológicas *de área*, en las que el análisis sobre la imagen se hace sobre múltiples imágenes binarias, obtenidas al hacer variar el umbral sobre todos los valores de la escala de grises. Cada una de estas imágenes se denomina *level set*.

En cada imagen se modifican pixeles de acuerdo a dos operadores definidos por los autores, la *apertura de área* y el *cierre de área*, que son análogos a los operadores de erosión y dilación, respectivamente; la apertura de área elimina regiones con una cantidad de pixeles menor a la especificada al operador del *level set* (denotada por $a$, el área mínima de la región), y el cierre de área hace la misma operación sobre el complemento del *level set*. El suavizado buscado se obtiene al aplicar operaciones sucesivas de apertura y cierre de áreas.

*3) Trabajo alrededor del área:* La morfología matemática tiene gran cantidad de aplicaciones en el procesamiento de imágenes, aún usando definiciones básicas como las presentadas en (1) y (2); se usa en muchos trabajos como método de preprocesamiento; en [9] se aplica una sucesión de erosiones y dilaciones condicionadas [10] para eliminar el ruido del fondo (*background*) de imágenes binarias. [7] es un trabajo en el que se estudia a fondo el problema de restauración de imágenes a partir de operaciones morfológicas. El trabajo en [4] es otro ejemplo de uso básico, en el que se hace el suavizado *después* de la segmentación. Aplicaciones similares pueden encontrarse en [6], [11].

## III. Diferenciación de objetos a bajo nivel

El objetivo en esta fase del procesamiento es asignar una categoría a los pixeles (o a regiones pequeñas) de la imagen analizada. En esta etapa se toma ventaja de la información proporcionada por la tinción de los tejidos y generalmente se usa la información de color de la imagen (la intensidad en cada canal) como criterio para hacer la clasificación, si bien en ciertos problemas es adecuado considerar otras características (como la textura) de las distintas partes de la imagen.

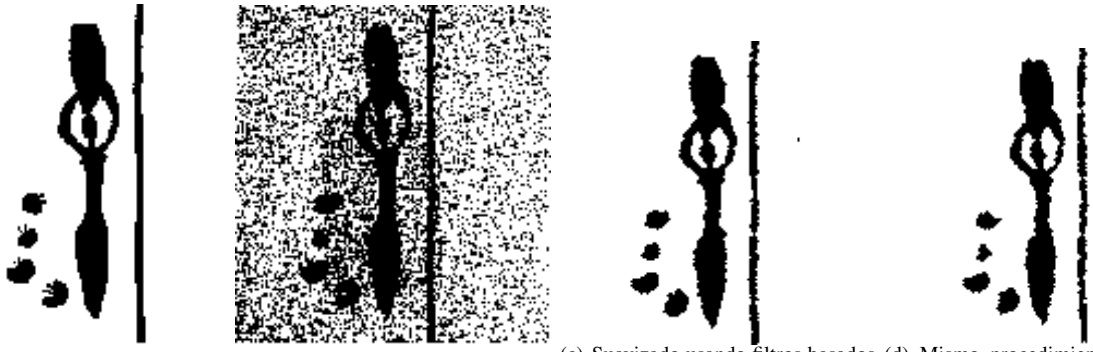
### A. Binarización (thresholding)

El método más directo —y tal vez uno de los más usados— es la binarización; se toma una imagen en escala de grises y se define un umbral: los pixeles con un valor por debajo del umbral se vuelven negros, y el resto se hace blancos. Esta es una operación útil en tanto que la mayoría de los problemas buscan distinguir dos objetos diferentes en la imagen: el objeto de interés y el fondo (*background*).

El valor del umbral debe ser escogido de acuerdo a un criterio particular no sólo para cada problema sino *para cada imagen*, debido a las variaciones en la tinción o en la iluminación de la muestra; en este aspecto es bastante útil la información que da el histograma de la imagen.

Los métodos de binarización pueden dividirse en seis categorías diferentes [12], a saber:

- Métodos basados en la forma del histograma; sus máximos y mínimos, la curvatura, etc.
- Métodos basados en *clustering*; se busca clasificar los distintos niveles de intensidad en dos grupos diferentes.
- Métodos basados en entropía. Generalmente son métodos que usan la entropía del frente y el fondo de la imagen, o la entropía cruzada entre la imagen original y la binarizada.
- Métodos basados en atributos de objetos; se apoyan en medidas como la coincidencia de bordes, similaridad de formas, etc.



(a) Imagen original (b) Imagen degradada (c) Suavizado usando filtros basados en morfología matemática (d) Mismo procedimiento que en la Fig. 1(c), cambiando el elemento estructurante

*Fig. 1: Suavizado de imágenes usando morfología matemática. El procedimiento está basado en elementos de teoría de decisión y aplicaciones sucesivas de operadores morfológicos [7].*

- Métodos espaciales, basados en distribuciones de probabilidad o en la correlación entre los pixeles de la imagen.
- Métodos locales, que adaptan el umbral de acuerdo a las características de la región analizada.

Un problema con esta técnica es la variación de la iluminación sobre distintas zonas de la misma imagen. En [3] se resuelve este problema usando binarización por sectores, fijando umbrales diferentes para varias partes de la misma imagen [13].

### B. Métodos de aprendizaje computacional y minería de datos

Este enfoque es muy usado cuando hay más de dos tipos de objetos, o cuando la distinción entre los distintos objetos de la imagen es algo difusa. Es muy útil además cuando se quieren usar otras características además del color, que sean cuantificables. En [14] se presenta un método de segmentación basado en SVM que usa caracterización de texturas además de la intensidad en cada canal como parte de los atributos para clasificación.

*1)* Support Vector Machines*:* una SVM es un método de aprendizaje computacional usado para clasificación y regresión de datos. La idea detrás de su funcionamiento es usar una función particular —el *kernel* de la SVM— para mapear los datos a un espacio en el que sean fácilmente separables por una función lineal (un hiperplano).

[15] es un *survey* sobre el uso de *Support Vector Machines* en problemas de reconocimiento de patrones. En [14] se muestra el uso de este método para identificar heridas en imágenes de video de uno y varios pacientes; la clasificación se hace construyendo una variedad de características basadas en la intensidad en las capas de color y una cuantificación de texturas, ver figura 2. En [16] se usa una SVM para identificar linfocitos en imágenes de micrografos. El trabajo en [17] se vale de un método basado en *kernels* para hacer una preclasificación de los pixeles de la imagen para hacer detección de células mediante algoritmos genéticos (ver sección VI-A.2).

*2)* $K$-means*:* es un método de clasificación que separa los datos en $K$ categorías distintas. Para hacerlo se calculan $K$ puntos que funcionan como centros de cada categoría, y a cada punto del conjunto de datos se le asigna la categoría cuyo centro esté más cerca. El centro de cada categoría se define como el *centroide geométrico* o el punto medio de los puntos que la conforman; conforme se van recalculando los centroides, los puntos van cambiando de categoría. El algoritmo se detiene cuando los centroides dejan de moverse.

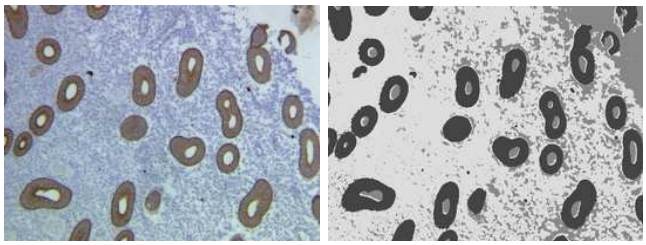


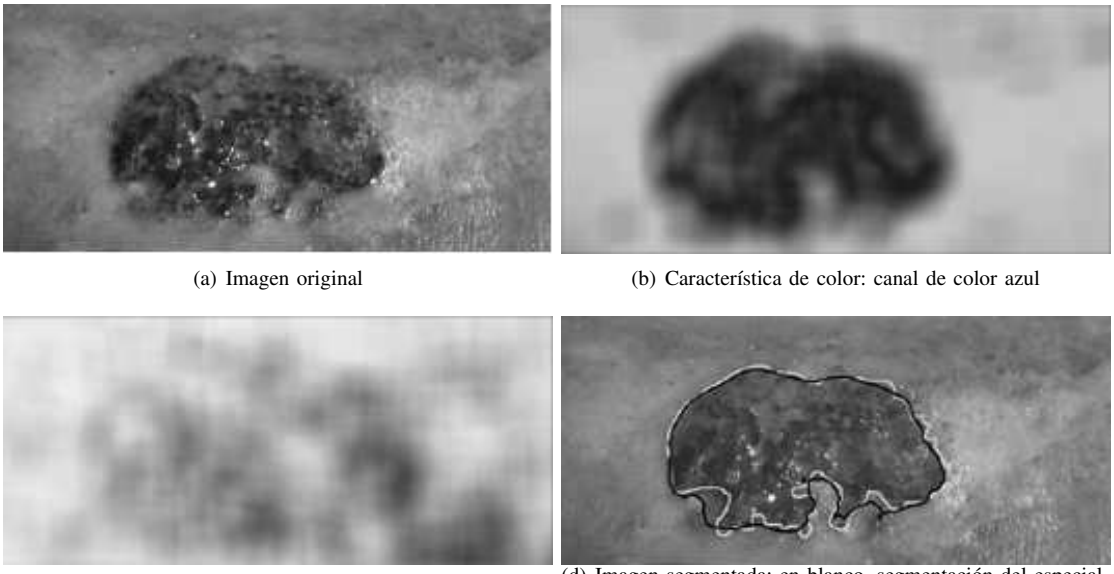
*Fig. 3: Ejemplo de segmentación usando* K*-means: segmentación de glándulas de endometrio basada en color.*

K-*means* es bastante usado debido a la sencillez conceptual y de implementación del método. En [9] se utiliza para separar el fondo (*background*) en imágenes de *microarrays*, una técnica usada para el estudio de la expresión de ADN y proteínas. La clasificación se hace basándose en la intensidad, con centroides establecidos de antemano para acelerar el proceso.

### C. Análisis de texturas

Esencialmente, las texturas son réplicas, simetrías, o combinaciones de varios patrones básicos o funciones locales de la imagen, usualmente con pequeñas variaciones aleatorias [18]. Para propósitos de clasificación las texturas se caracterizan mediante los valores de ciertas medidas estadísticas, tomadas sobre distintas partes de la imagen. La mayor parte de estas medidas se obtienen partiendo de la presunción de que la textura puede ser caracterizada por la distribución de la intensidad en los alrededores del punto examinado; generalmente son una medida estadística que involucra no sólo al punto sino a varios de sus vecinos.

En [18] se presentan varias maneras de caracterizar la textura de una imagen; Liu *et. al.* [19] presenta otros métodos de clasificación de texturas inspirados en la forma en que se



(a) Imagen original

(b) Característica de color: canal de color azul

(c) Característica de textura: medida de covarianza simétrica

(d) Imagen segmentada: en blanco, segmentación del especialista; en negro, segmentación del sistema

*Fig. 2: Segmentación de imágenes usando SVM: Segmentación de imágenes de heridas [14]*

cree perciben las texturas los seres humanos, mediante bancos de filtros. El trabajo está orientado a la clasificación de texturas en general.

Santos *et. al.* [20] desarrolló un trabajo en el que usan varias de las medidas clásicas para caracterización de texturas, estadísticos como curtosis, media, varianza, correlación, entropía, entre otras, y se hace un análisis estadístico para determinar cuáles son las más discriminantes para el problema particular, en este caso de detección de células vivas en cultivos de laboratorio. El análisis de texturas es relevante en este problema debido a la naturaleza de las imágenes, ya que se presenta sobrelapamiento de los objetos y hay una clara diferencia en la distribución de intensidades (en la textura) entre las dos zonas de interés.

## IV. Detección de bordes

La detección de bordes en una imagen es una operación necesaria para varios algoritmos de segmentación; generalmente es usada para dar indicadores de los sitios de la imagen en los que hay información y son susceptibles de segmentación.

### A. Operaciones clásicas

*1) Operador de Canny:* este es un método bastante conocido para detección de bordes

El método consta de varias fases:

- **Suavizado de la imagen:** La imagen se convoluciona con un filtro gaussiano para eliminar el ruido provocado por pixeles aislados, cuantización, etc.
- **Cálculo del gradiente de la imagen** El gradiente se calcula usando cuatro máscaras, para detectar adecuadamente bordes horizontales, verticales y diagonales.
- **Binarización de la imagen con dos umbrales** Esta estrategia permite definir conjuntos de pixeles de lo que se sabe con bastante seguridad que forman parte de un borde, binarizando con un valor alto. Para afinar la detección de bordes se asume que los bordes tienden a formas líneas rectas, y considerando las direcciones de los distintos bordes detectados inicialmente se añaden aquellos pixeles por encima del segundo valor de umbralización.

[17] presenta un método de segmentación de células en imágenes con bastante ruido. La manera de atacar el problema es sencilla: se hace detección de bordes con el operador de Canny, se descartan (de acuerdo a la cantidad de pixeles) aquellos bordes demasiado pequeños. Los pixeles resultantes se clasifican usando un método basado en *kernels* y finalmente se aplica un algoritmo genético para estimar los parámetros que ajusten los bordes a una elipse.

### B. Morfología matemática

Las operaciones de dilación y erosión también pueden ser usadas para detectar bordes de imágenes: una muy buena aproximación del borde de una imagen binaria puede obtenerse calculando la diferencia entre la imagen binaria original y una erosión (2). Esta operación se conoce como *gradiente morfológico*, y se nota como $\partial X = (X - (X \ominus B))$.

Una variación de este enfoque es usado por Nedzved *et. al.* [21] para detectar bordes; la operación aplicada por ellos es $\partial X = ((X \oplus B)) - (X \ominus B))$, esto es, la diferencia de una dilación y una erosión.

Acton *et. al.* (ver sección II-B.2) propone un método de detección de bordes basado en vecindades, en donde cada pixel candidato a borde se elige considerando dos medidas: la cantidad de pixeles conectados con una intensidad mayor o igual a la de él, y la cantidad de pixeles conectados con intensidad menor o igual; los puntos en los que esta diferencia cambia de signo son seguramente bordes de la imagen. Los resultados obtenidos se comparan con operaciones como el operador de Canny (sección IV-A.1) y la diferencia de filtros

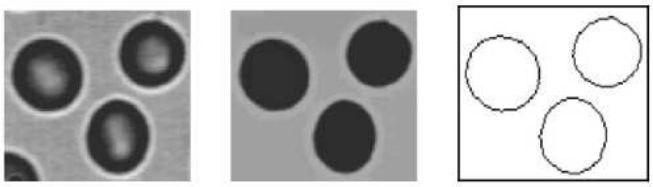


*Fig. 4: Preprocesamiento y detección de bordes usando morfología de área [8].*

gaussianos, mostrando resultados superiores en la mayoría de los ejemplos presentados. La figura 4 muestra los resultados de aplicar la técnica a la detección de células en imágenes de muestras de sangre.

### C. Otras operaciones

*1) Funciones modelables a trozos:* Pathak *et. al.* [22] presenta un método de detección de límites en imágenes de próstata. La detección usa información relativa a la forma de la próstata y presenta al usuario un conjunto de segmentos para que los una manualmente. La unión de bordes se hace manual para que el usuario pueda integrar cierta información anatómica particular de cada paciente en el proceso de detección.

Para la detección de bordes primero se ejecuta un procedimiento denominado *Weak Membrane Fitting* que halla bordes modelables por funciones a trozos. Luego aprovechando que se conoce de manera aproximada la forma buscada se descartan los bordes que están más allá de una distancia calculada para cada imagen.

### D. Separación de bordes de objetos

En muchas imágenes de histología uno de los problemas que se presentan es que los objetos a segmentar se encuentran demasiado juntos; al binarizar o aplicar alguno de los métodos de clasificación basados en intensidad de los pixeles, dos objetos diferentes demasiado cercanos pueden aparecer como uno solo. Una técnica muy usada para resolver este problema es la construcción de cartas de distancias.

Una *carta de distancias* es una imagen en la que la intensidad de cada pixel es la medida de la mínima distancia a otro conjunto de pixeles [23]. La construcción de esta imagen es útil para reconocimiento de patrones ya que permite hacer que la búsqueda de un patrón particular pueda hacerse buscando mínimos en funciones suaves (las intensidades en la carta de distancias). Otra aplicación de las cartas de distancias permite separar objetos, buscando los puntos máximos de la carta de distancias, calculada respecto al fondo (*background*) o al centro de cada objeto.

Una aplicación práctica de este resultado puede encontrarse en [3]; los autores usan cartas de distancias en imágenes de tejido nervioso para separar los bordes de axones que alcanzan a tocarse.

## V. Conexión de bordes

El resultado de la gran mayoría de métodos de binarización y detección de bordes entregan contornos discontinuos al ser usados en imágenes de histología. Esta situación puede controlarse en cierta medida haciendo algún tipo de preprocesamiento a la imagen, pero aún pueden quedar segmentos inconexos de los objetos a segmentar.

La conexidad es importante para ciertos problemas: en muchos tipos de análisis es necesario medir y comparar las distintas áreas de los objetos dentro de la imagen, reconstruir contornos, comparar tamaños de objetos, etc.

### A. Funciones de potencial

La idea detrás del método es hacer que los pixeles de la imagen tengan asociada una carga (un potencial), de manera análoga a un potencial eléctrico. Luego se simula el comportamiento del sistema construido, considerando que la fuerza de atracción entre dos partículas cargadas (dos pixeles) es inversamente proporcional a la distancia que las separa, y se van añadiendo pixeles en los bordes, siguiendo la dirección de los vectores de fuerza. Un ejemplo de la aplicación de esta técnica puede verse en la figura 5.

El método es presentado por Zhu *et. al.* en [24]. Es muy importante señalar que los autores asumen que sólo hay cargas positivas y que se atraen entre sí. Una comparación adecuada es asumir que los pixeles son objetos con masa considerable y que la fuerza que indica en qué dirección deben moverse los pixeles es análoga a la fuerza gravitacional. Una característica adicional del método es que la magnitud de la carga varía en cada pixel, considerando si está ubicado en el borde o en la parte interior de la curva. Los pixeles en la parte externa reciben una magnitud mayor.

En [25] se presenta una aplicación de este método para la segmentación de imágenes; si bien no se tratan imágenes histológicas son imágenes de escenas naturales con mucho ruido, en las que las fronteras de los bordes usualmente no se encuentran bien definidas.

### B. Operaciones morfológicas

Un enfoque basado en operaciones de morfología matemática para conectar segmentos es presentado por Shih *et. al.* en [26]. El método propuesto es usar elipses como elementos estructurantes, y variar su inclinación y escala de acuerdo a la orientación de los pixeles vecinos.

Para lograr esto los autores definen las operaciones de *dilación adaptiva*

$$A\widehat{\oplus}B = \{c \in E^2 \mid c = a + \hat{b}; a \in A \text{ y } \hat{b} \in [R(a)S(a)\partial B]\} \tag{3}$$

donde $R$ y $S$ representan matrices de escalado y rotación, respectivamente.

Variando las matrices $R$ y $S$ de acuerdo a la información local se consigue orientar al elemento estructurante en la dirección deseada.

Este método tiene la desventaja de que para poder conectar una par de segmentos es necesario que sus prolongaciones se intersecten en algún punto. Sin embargo, esto no es un problema en la mayoría de los casos, ya que las discontinuidades son introducidas por la binarización o el adelgazamiento de la imagen; los segmentos resultantes son dan una buena

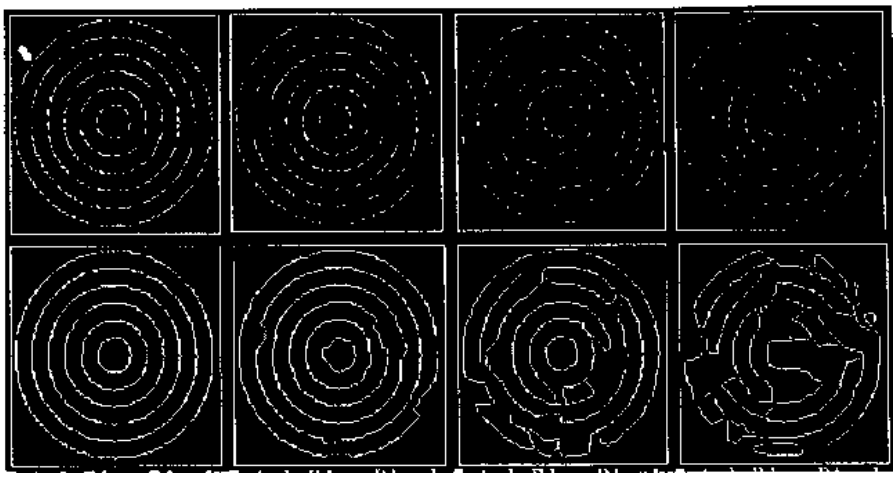


*Fig. 5: Conexión de bordes usando funciones de potencial [24]*

estimación de la forma original de la curva, lo que facilita el proceso de conexión.

## VI. Segmentación de objetos

### A. *Métodos con información* a priori

*1) Transformada Hough:* es un método de detección de curvas parametrizables en imágenes binarias; de manera más global, puede encontrar los parámetros de una curva definida de antemano que se ajustan mejor a una curva particular en la imagen. Un ejemplo sencillo es la detección de líneas rectas —curvas de la forma $y = mx + b$: la transformada Hough permite estimar los parámetros $m$ y $b$ de cada línea en la imagen.

Uno de los problemas más graves de esta técnica es su alto costo computacional, tanto en tiempo como en espacio [1], [27]. En imágenes de histología esta técnica es usada generalmente en problemas de detección de células; el enfoque utilizado es tratar de ajustar los bordes de las células usando elipses [1]. La idea funciona bastante bien en imágenes simples, pero se ve limitada rápidamente cuando hay que detectar una gran cantidad de objetos o cuando hay mucho ruido en la imagen. Por otro lado, este método funciona aún cuando la curva tiene discontinuidades, lo que le brinda robustez para procesar el resultado de varios métodos de detección de bordes.

En [28] se presenta una modificación a la transformada Hough que permite usarla para detectar formas arbitrarias. El autor propone una extensión a la transformada Hough para reconocimiento de formas naturales (o libres), en el que el principal aporte es la reducción en la cantidad de ejemplos necesarios para «entrenar» la operación de transformación; sólo se requiere de uno, y los «otros» (que se usan para determinar la variabilidad de la forma) se construyen mediante erosiones y expansiones. Este enfoque resuelve el problema de la variabilidad de formas en imágenes de histología.

Un método derivado de la transformada Hough —la transformada aleatorizada Hough— resuelve de manera sencilla y eficaz el problema del consumo de tiempo y espacio; una presentación bastante completa se hace en [27].

*2) Otros métodos:* El trabajo en [29] menciona el uso de inferencia bayesiana; la estrategia se puede describir como el determinar la probabilidad de que un objeto dado $x$ se encuentre en una imagen particular $y$. En términos de probabilidad, esto se escribe como:

$$P(x \mid y) = \frac{P(y \mid x)P(x)}{P(y)} \tag{4}$$

donde $P(x)$ es el modelo *a priori*, que expresa la probabilidad de que $x$ aparezca, independientemente de la imagen $y$. $P(x \mid y)$ mide la probabilidad de que en la imagen aparezca $y$ dado que $x$ está presente. Las probabilidades *a priori* se calculan de antemano, estimando un modelo de asignación de categorías para los pixeles de la imagen. Para segmentar un objeto se busca la clasificación que maximice la probabilidad *a posteriori*.

Otra aproximación es el uso de algoritmos genéticos. Yang *et. al.* [17] resuelven el problema de detección de células en imágenes de histología modelando las formas de las células como elipses; hacen una preclasificación de los pixeles y luego usan algoritmos genéticos para estimar los parámetros de las elipses que describen mejor las formas en la imagen.

En [30] se usa un método basado en maximización de funciones. El artículo presenta un método de detección de elipses en el que se usan funciones de penalización para ajustar los parámetros de la elipse buscada. Los autores indican que el método tiene un rendimiento mayor, tanto en espacio como en velocidad, que la Transformada Hough. De la misma manera argumentan que funciona mejor que métodos de clasificación como Bayes o K-*means*.

A primera vista el método puede ser generalizado a detección de primitivas cualesquiera, como líneas. El algoritmo no sólo usa información de los bordes de la imagen (imagen binarizada), sino de la imagen misma (escala de grises). Sin embargo esta generalización no se explora.

Una característica muy importante es que el método es capaz de detectar células (elipses) superpuestas, un problema común en varios tipos de imágenes histológicas.

### B. Métodos «directos»

*1) Redes neuronales:* Danckaert *et. al.* [6] presenta un método de identificación de organelos en imágenes de células; las imágenes son escaladas a un tamaño estándar, para luego ser divididas en cuatro partes iguales, que son dadas como entrada a cuatro partes diferentes de la capa de entrada. La red construida indica a cuál de los seis tipos de organelo corresponde la imagen dada.

*2) Transformada* watershed*:* Una forma amable de presentar este método de segmentación es comparar la imagen con un terreno en el que la intensidad de cada pixel indica la altura del terreno en ese punto. La segmentación se hace simulando una «lluvia» sobre la imagen; cuando dos charcos se unen para formar uno más grande, se marcan como bordes los pixeles en los cuales se unieron los dos charcos.

Un problema de este método es la llamada sobresegmentación (Fig. 6(b)): el método entrega una gran cantidad de regiones pequeñas. Esto se debe principalmente al ruido y a los errores en la cuantización de la imagen.

Una de las estrategias usadas para atacar este problema es fusionar regiones similares [31], ver fig. 6(c). En [4] se usa una aproximación diferente, permitiendo que surja agua sólo en ciertos sitios, denominados semillas. Esta modificación ha mostrado ser bastante efectiva para segmentación de imágenes [4], [32].

Los resultados de la segmentación usando *watershed* con esa modificación pueden verse en la figura 7, donde se ubican las semillas para el método en los núcleos de cada célula.

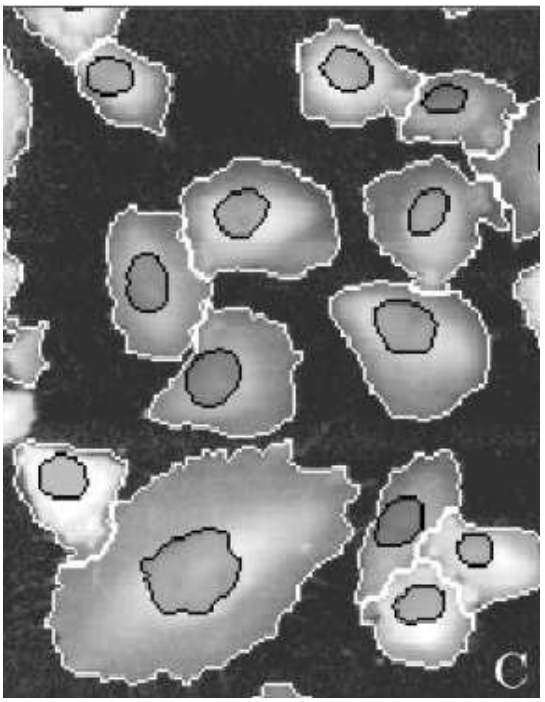



*Fig. 7: Segmentación en imágenes de células usando* watershed *con semillas [4].*

*3)* snakes*:* El trabajo expuesto en [33] presenta un sistema de diagnóstico de cáncer basado en imágenes histológicas de células. Cada muestra es teñida varias veces, y las múltiples imágenes obtenidas de registran para dar lugar a una sola imagen, sobre la cual se hace la búsqueda de formas.

La búsqueda de formas se hace mediante B-*snakes*, y los bordes que dan la fuerza para el movimiento del *snake* se hallan mediante un filtro gaussiano derivativo. Para fijar la posición inicial de *snake* se usa información del color de la imagen.

## VII. Conclusiones

La tarea de análisis de imágenes histológicas no es simple; la cantidad de ruido y características especiales de estas imágenes es considerable y descarta muchos de los enfoques directos para resolver este problema.

En el área de preprocesamiento de las imágenes hay una gran variabilidad en los enfoques usados, que dependen fuertemente del problema y aún más de los métodos de obtención de las imágenes. Como alternativa a los filtros clásicos en procesamiento de imágenes las operaciones de morfología matemática se han hecho viables gracias a una mayor velocidad de procesamiento disponible y a avances conceptuales y de implementación.

La preclasificación o segmentación a bajo nivel es un área en la que hay una gran cantidad de trabajo; muchos de los enfoques usados en esta tarea son experimentales en la medida en que no hay criterios para decidir qué técnica es la más adecuada para algún tipo de problema. Sin embargo, la mayor parte de las aplicaciones de clasificación usando métodos de aprendizaje maquinal o *clustering* muestran resultados aceptables en los problemas aplicados. Una de las técnicas más usadas en los trabajos actuales es *SVM* (sección III), debido a su robustez frente al ruido de las imágenes a clasificar.

En el área de segmentación de objetos hay una gran cantidad de trabajos que usan métodos como la transformada Hough u otras técnicas de detección de curvas «primitivas» (líneas, elipses, círculos), principalmente en los problemas que involucran imágenes de células con núcleos fácilmente detectables. Sólo recientemente se han aplicado métodos alternativos que no dependen de restricciones sobre las formas buscadas, como la transformada *watershed* [4] o ciertas representaciones de imágenes basadas en morfología matemática [3].

## References

[1] T. W. Nattkemper, "Automatic segmentation of digital micrographs: A survey," *medinfo*, 2004.

[2] F. J. Sanchez-Marin, "Automatic segmentation of contours of corneal cells." *Comput Biol Med.*, vol. 29, pp. 243–258, 1999.

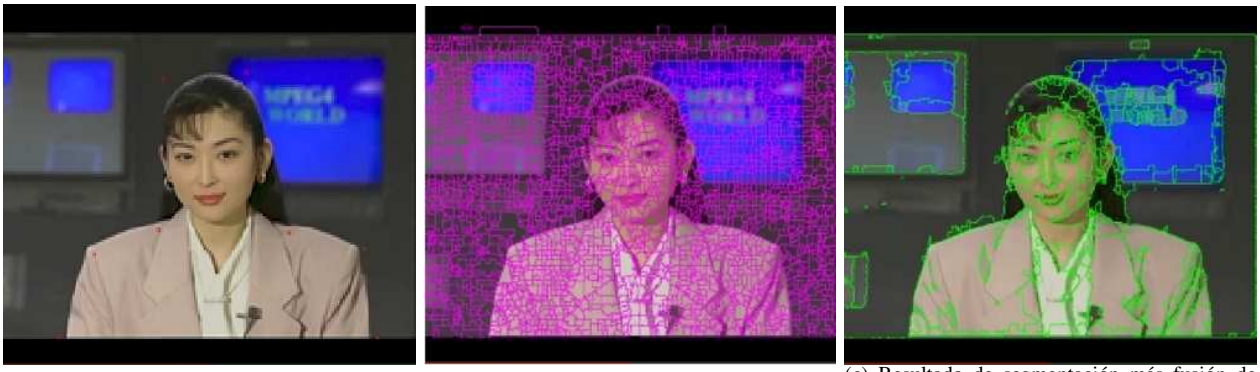
[3] O. Cuisenaire, E. Romero, C. Veraart, and B. M. M. Macq, "Automatic segmentation and measurement of axons in microscopic images," in *Image Processing*, 1999.

[4] J. Lindblad, C. Wählby, E. Bengtsson, and A. Zaltsman, "Image analysis for automatic segmentation of cytoplasms and classification of rac1 activation," *Cytometry*, vol. 53, pp. 22–33, 2003.

[5] C. G. Loukas and A. Linney, "A survey on histological image analysis-based assessment of three major biological factors influencing radiotherapy: proliferation, hypoxia and vasculature," *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, vol. 74, pp. 183–199, 2004.

[6] A. Danckaert, E. Gonzalez-Couto, L. Bollondi, N. Thompson, and B. Hayes, "Automated recognition of intracellular organelles in confocal microscope images," *Traffic*, vol. 3, p. 66, 2002.

[7] J. Schonfeld, D. Goutsias, "Optimal morphological pattern restoration from noisy binary images," *Pattern Analysis and Machine Intelligence, IEEE Transactions on*, vol. 13, pp. 14–29, 1991.



(a) Imagen original (b) Segmentación usando *watershed* (c) Resultado de segmentación más fusión de regiones

*Fig. 6: Resultado de segmentación usando* watershed *[31].*


[8] S. T. Acton and D. P. Mukherjee, "Area operators for edge detection," *Pattern Recognition Letters*, vol. 21, pp. 771–777, 2000.

[9] S. Wu and H. Yan, "Microarray image processing based on clustering and morphological analysis," in *CRPITS '03: Proceedings of the First Asia-Pacific bioinformatics conference on Bioinformatics 2003*. Darlinghurst, Australia, Australia: Australian Computer Society, Inc., 2003, pp. 111–118.

[10] L. Vincent, "Morphological grayscale reconstruction in image analysis applications and effective algorithms," *IEEE Transactions On Image Processing*, vol. 2, pp. 176–201.

[11] H. Hamdan, A. Youssef, and M. Rasmy, "The potential of mathematical morphology for contour extraction from ultrasound images," *Engineering in Medicine and Biology Society, 1996. Bridging Disciplines for Biomedicine. Proceedings of the 18th Annual International Conference of the IEEE*, vol. 2, pp. 881–882, 1996.

[12] M. Sezgin and B. Sankur, "Survey over image thresholding techniques and quantitative performance evaluation," *Journal of Electronic Imaging*, vol. 13, pp. 146–165, 2004.

[13] O. D. Trier and T. Taxt, "Evaluation of binarization methods for documented images," *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, vol. 26, pp. 312–315, 1995. [Online]. Available: nada

[14] M. Kolesnik and A. Fexa, "Segmentation of wounds in the combined color-texture feature space," in *SPIE2004 Proceedings*, 2004.

[15] C. J. C. Burges, "A tutorial on support vector machines for pattern recognition," *Data Mining and Knowledge Discovery*, vol. 2, no. 2, pp. 121–167, 1998.

[16] T. Twellmann, T. Nattkemper, W. Schubert, and H. Ritter, "Cell detection in micrographs of tissue sections using support vector machines," in *ICANN 2001 Workshop on Kernel & Subspace Methods for Computer Vision*, 2001.

[17] F. Yanga and T. Jiang, "Cell image segmentation with kernel-based dynamic clustering and an ellipsoidal cell shape model," *Journal of Biomedical Informatics*, vol. 34, pp. 67–73, 2001.

[18] D. Harwood, T. Ojala, M. Pietikäinen, S. Kelman, and L. Davis, "Texture classification by center-symmetric auto-correlation, using kullback discrimination of distributions," *Pattern Recognition Letters*, vol. 16, p. 10, 1995.

[19] X. Liu and D. Wang, "Texture classification using spectral histograms," *IEEE Transactions On Image Processing*, vol. 12, pp. 661–670, 2003.

[20] A. Santos, C. Ramiro, M. Desco, N. Malpica, A. Tejedor, A. Torres, M. C. M. J. Ledesma-Carbayo, and P. García-Barreno, "Automatic detection of cellular necrosis in epithelial cell cultures," *SPIE*, vol. 4322, pp. 1605–7422, 2001.

[21] A. Nedzved, S. Ablameyko, and I. Pitas, "Morphological segmentation of histology cell images," *International Conference on Pattern Recognition*, vol. 1, p. 1500, 2000.

[22] S. Pathak, D. Haynor, and Y. Kim, "Edge-guided boundary delineation in prostate ultrasound images," *Medical Imaging, IEEE Transactions on*, vol. 19, pp. 1211–1219, 2000.

[23] O. Cuisenaire, "Distance transformations: fast algorithms and applications to medical image processing," Ph.D. dissertation, Université Catholique de Louvain, 1999.

[24] M. P. Qiuming Zhu and V. Riordan, "Edge linking by a directional potential function (dpf)," *Image and Vision Computing*, vol. 14, pp. 59–70, 1996.

[25] J. Maeda, T. Iizawa, T. Ishizaka, C. Ishikawa, and Y. Suzuki, "Segmentation of natural images using anisotropic diffusion and linking of boundary edges," *Pattern Recognition*, vol. 31, pp. 1993–1999, 1998.

[26] F. Y. Shih and S. Cheng, "Adaptive mathematical morphology for edge linking," *Information Sciences*, vol. 167, pp. 9–21, 2004.

[27] L. Xu and E. Oja, "Randomized hough transform (rht): Basic mechanisms, algorithms, and computational complexities," *CVGIP: Image Understanding*, vol. 57, pp. 131–154, 1993.

[28] N. Bonnet, "An unsupervised generalized hough transform for natural shapes," *Pattern Recognition*, vol. 35, pp. 1193–1196, 2002.

[29] V. Zharkova, S. Ipson, A. Benkhalil, and S. Zharkov, "Feature recognition in solar images," *Artificial Intelligence Review*, vol. 23, pp. 209–266, 2005.

[30] H.-S. Wu, J. Barba, and J. Gil, "A parametric fitting algorithm for segmentation of cell images," *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 45, pp. 400–407, 1998.

[31] L. Wayne, "Mathematical morphology and its applications on image segmentation," Ph.D. dissertation, National Taiwan University, 2000.

[32] A. Jalba, M. Wilkinson, and J. Roerdink, "Automatic segmentation of diatom images for classification." *Microscopy Research and Technique*, vol. 65, pp. 72–85, 2004.

[33] T. Würflinger, J. Stockhausen, D. Meyer-Ebrecht, and A. Böcking, "Robust automatic coregistration, segmentation, and classification of cell nuclei in multimodal cytopathological microscopic images," *Elsevier Science*, 2003.