Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas

Facultad de Ingeniería Eléctrica Centro de Estudios de Estudios de Electrónica y Tecnologías de la Información (CEETI)



TRABAJO DE DIPLOMA

Estudio de métodos para la segmentación de imágenes a color de células en citología bronquial y serosa

Autor: Yusvel Lugo Vaillant Tutor: Ms.C. Ing. Julio César Ventosa Almeida

Santa Clara

2015

"Año 57 de la Revolución"

Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas

Facultad de Ingeniería Eléctrica

Centro de Estudios de Estudios de Electrónica y Tecnologías de

la Información (CEETI)



TRABAJO DE DIPLOMA

Estudio de métodos para la segmentación de imágenes a color de células en citología bronquial y serosa

Autor: Yusvel Lugo Vaillant ylugo@uclv.edu.cu

Tutor: Ms.C. Ing. Julio César Ventosa Almeida

Profesor Asistente, CEETI Facultad de Ingeniería Eléctrica <u>ventosa@uclv.edu.cu</u>

Santa Clara

2015

"Año 57 de la Revolución"



Hago constar que el presente trabajo de diploma fue realizado en la Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas como parte de la culminación de estudios de la especialidad de Ingeniería en Biomédica, autorizando a que el mismo sea utilizado por la Institución, para los fines que estime conveniente, tanto de forma parcial como total y que además no podrá ser presentado en eventos, ni publicados sin autorización de la Universidad.

Firma del Autor

Los abajo firmantes certificamos que el presente trabajo ha sido realizado según acuerdo de la dirección de nuestro centro y el mismo cumple con los requisitos que debe tener un trabajo de esta envergadura referido a la temática señalada.

Firma del Tutor

Firma del Jefe de Departamento donde se defiende el trabajo

Firma del Responsable de Información Científico-Técnica

PENSAMIENTO

"No existe nunca una manera fácil. No importa cuán talentoso seas, tu talento te va a fallar si no lo desarrollas. Si no estudias, si no trabajas duro, si no te dedicas a ser mejor cada día"

Will Smith.

"La inteligencia consiste no solo en el conocimiento, sino también en la destreza de aplicar los conocimientos en la práctica"

Aristóteles.

DEDICATORIA

A mis padres, que nunca me han fallado y siempre han estado ahí cuando lo he necesitado. Por creer en mí y ser mis mejores amigos.

A mi hermano (Tata), que ha sido mi ángel de la guarda en estos cinco años, que nunca me dio la espalda y siempre estuvo ahí sin importar cuán difícil fuera el problema.

A mi abuela Ana, que nunca dejó de darme fuerzas.

A mi tía Norma, que siempre me apoyo.

A mi madrina, que siempre estuvo al tanto de mí en todo este tiempo.

A toda mi familia y amigos en general.

AGRADECIMIENTOS

Les agradezco:

A mis padres por su sacrificio para que mi sueño se hiciera realidad.

A mi hermano que nunca dejó de darme su apoyo.

A mi familia por su ayuda incondicional.

A mis amigos del barrio y la universidad que hicieron cuanto estuvo a su alcance para ayudarme.

A mi tutor que juntos pasamos muchas noches de insomnio para poder realizar este trabajo.

A todos los profesores del CEETI que de una forma u otra aportaron a este trabajo. A la UCLV por darme la oportunidad de formarme en sus filas como un buen profesional.

TAREA TÉCNICA

- 1. Estudio de los procesos de citología bronquial para tener un conocimiento básico en el momento de evaluar los resultados.
- Estudio de los espacios de color y de los métodos de Procesamiento digital de imágenes empleados para la segmentación.
- 3. Estudio de los métodos estadísticos existentes para evaluar los algoritmos de segmentación.
- 4. Búsqueda de unas bases de datos que contengan imágenes a color anotadas de células extraídas de la citología bronquial y serosa
- 5. Implementar o Aplicar los algoritmos a cada una de las imágenes de la base de datos.
- 6. Evaluar los resultados de cada algoritmo para determinar el de mejor calidad de segmentación.

Firma del Autor

Firma del Tutor

RESUMEN

En el mundo de la investigación actual, el desarrollo de nuevas técnicas de segmentación es un área de gran interés, aunque aún no se le ha dedicado suficiente empeño a la evaluación precisa de dichas técnicas. En el caso de la segmentación a color específicamente, la elección de un espacio de color adecuado sigue constituyendo un reto en procesado y análisis de las imágenes en color.

En este trabajo, se propuso la evaluación de algoritmos de segmentación aplicado a imágenes a color, adquiridas de las bases de datos del autor Oliver Lezoray, que describen imágenes de citología bronquial y serosa. Tomando como base de este estudio los espacios de colores RGB, HSV y CIEL*a*b*; se utilizaron distintas técnicas de segmentación. Las técnicas empleadas fueron: basada en umbrales, por agrupamiento de píxeles, por distancias e inteligencia artificial. Para la evaluación de los resultados se utilizaron las medidas de distancia de Jaccard y Dice. Para estos casos se obtuvo que el espacio de color donde los algoritmos se desempeñaban con mejor resultados fue el CIEL*a*b* y el algoritmo de mejor resultado el que segmenta a partir de la distancia de Mahalanobis.

INDICE

PENSAMIENTO						
DEDICATORIA ii						
AGRADECIMIENTOS iii						
RESUMEN						
INTRODUCCIÓN1						
CAPÍTULO 1. FUNDAMENTOS TEÓRICOS SOBRE LAS TÉCNICAS SEGMENTACIÓN DE IMÁGENES A COLOR						
1.1 Aspectos generales de la citología bronquial4						
1.2 Particularidades acerca de las células serosas en las glándulas salivales						
1.2.1 Células serosas6						
1.3 Uso de la microscopía en la adquisición de imágenes						
1.3.1 Microscopio Óptico7						
1.4 Procesamiento Digital de Imagen						
1.4.1 Imagen digital9						
1.5 Espacios de colores9						
1.5.1 Espacio RGB10						
1.5.2 Espacio HSV11						
1.5.3 Espacio L*a*b*12						
1.6 Métodos de segmentación						
1.6.1 Segmentación de acuerdo a la información de color						
1.6.2 Segmentación por comparación con umbrales15						
1.6.3 Segmentación basada en agrupamiento (<i>clustering</i>)17						
1.6.4 Uso de la Inteligencia Artificial (IA) en el procesamiento de imágenes17						

1.7 Medidas para la evaluación de algoritmos de segmentación
1.8 Conclusiones del Capítulo21
CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS
2.1 Descripción de las bases de datos
2.2 Métodos de segmentación25
2.2.1 Método Umbral25
2.2.1.1 Método iterativo
2.2.2 Método empleando la información de color y la distancia Mahalanobis26
2.2.2.1 Tipos de variables27
2.2.2.2 Propiedades de la Distancia de Mahalanobis
2.2.3 Método de agrupamiento de píxeles
2.2.4 Método de segmentación por <i>Particle Swarm Optimization</i>
2.2.5 Coeficientes y distancias para la validación de los algoritmos
2.3 Análisis de balance de las bases de datos
2.4 Conclusiones del capítulo
CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN
3.1 Resultados de la comparación de los algoritmos en RGB, HSV, L*a*b*
3.2 Comparación entre los mejores algoritmos
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES
Conclusiones
Recomendaciones
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS
ANEXOS
Anexo I Imágenes de citología serosa y su estándar dorado

Anexo II	Imágenes de citología bronquial y su estándar dorado	61
Anexo III	Análisis del balance en las bases de datos	.63
Anexo IV R	esultados de las distancia de Jaccard y Dice para el algoritmo Iterativo	.64
Anexo V Re	sultados de las distancia de Jaccard y Dice en el algoritmo de la Distancia	de
Mahalanobis		.66
Anexo VI Re	esultados de las distancia de Jaccard y Dice en el método de K-means	.68
Anexo VII R	esultados de las distancia de Jaccard y Dice en el método de PSO.	71

INTRODUCCIÓN

En los estudios celulares se utilizan fotografías digitales, que al igual que ocurre con otros métodos de adquisición de imágenes, se encuentran afectadas por las características del sistema de adquisición y de almacenamiento de los datos. En el caso particular de las imágenes obtenidas a través de un microscopio digital, a este inconveniente se le añade que, para su estudio, la preparación de la muestra se realiza en una disolución acuosa que aporta partículas no deseadas que se comportan como ruido agregado a la imagen. Además, en algunos casos se utilizan también tinturas o disoluciones para hacer más visibles o para separar las agrupaciones de células, que pueden haberse formado en el proceso de preparación de la muestra, cuyo efecto se suma a los ya conocidos problemas asociados a la adquisición de imágenes digitales: contraste, ruido, desenfoque y distorsión.

Las técnicas utilizadas en el procesamiento digital de imágenes constituyen una herramienta que aplicada adecuadamente puede resolver los problemas asociados con el tratamiento de imágenes celulares, incrementando la confiabilidad del estudio. Estas técnicas reducen el costo humano implicado, produciendo un incremento de la eficiencia y eficacia del proceso, debido a las ventajas asociadas a su automatización.

Este trabajo tiene como propósito evaluar un grupo de técnicas o algoritmos para la segmentación de imágenes realizadas a células en suspensión de pruebas citológicas bronquiales y serosas. Este proceso implica la eliminación de las partículas no deseadas que se introducen en la imagen como consecuencia de la preparación de la muestra y la obtención de una imagen en blanco y negro que sea representativa de la imagen original y que mantenga, en alguna medida, los parámetros de forma y tamaño celular.

1

Problema científico:

Ausencia de un estudio el cual permita informar los métodos que mejores resultados ofrecen en la segmentación de las muestras de citología bronquial y serosa. Para que posteriormente, los investigadores lo empleen como medio de consulta.

Hipótesis de la investigación:

Si se realiza una evaluación de los algoritmos de segmentación en imágenes de células bronquiales y serosas, a partir de las distancias de similitud, se podrá conocer cuál de los métodos ofrece una mejor calidad en la segmentación.

Objetivo

Evaluar la calidad de la segmentación, de diferentes métodos de segmentación de imágenes a color, en muestras de citología bronquial y serosa, a partir de diferentes medidas de evaluación estadística.

Objetivos Específicos

- Realizar un estudio de las características de las imágenes digitales de microscopía celular en citología bronquial y células serosa.
- Realizar la búsqueda de bases de datos anotadas gratuitas para la evaluación de los algoritmos que se seleccionen.
- Realizar un estudio del estado del arte de las técnicas de segmentación utilizadas en imágenes digitales a color.
- Realizar un estudio de los métodos de evaluación de la calidad de la segmentación de imágenes existentes.
- Aplicar los algoritmos seleccionados a las bases de datos encontradas para su posterior evaluación con las medidas o coeficientes estadísticos que más brinden información de la calidad del resultado.

Estructura del documento

Este documento está estructurado en introducción, tres capítulos, conclusiones y recomendaciones.

El Capítulo 1, "Estado del arte", realiza una breve descripción tanto de la citología bronquial como la serosa y posteriormente describe los conceptos de procesamiento digital de imágenes, los espacios de color y los métodos que se emplean en la segmentación de color y validación de estos.

El Capítulo 2, "Materiales y métodos", expone una descripción de las bases de datos empleadas, así como de los algoritmos utilizados para segmentar las células presentes en la suspensión. Se realiza además una descripción de las métricas utilizadas para validar los algoritmos.

En el Capítulo 3, "Discusión de los resultados", Se muestran los resultados de las comparaciones de cada uno de los algoritmos en cada espacio de color para así seleccionar en que espacio de color los resultados son los mejores. Después de este análisis se comparan los mejores de cada espacio de color para obtener el que mejor segmentó. Todo esto empleando los coeficientes y distancias estadísticas para la evaluación de las segmentaciones realizadas.

Por último se incluyen las conclusiones generales y recomendaciones para trabajos futuros.

CAPÍTULO 1. FUNDAMENTOS TEÓRICOS SOBRE LAS TÉCNICAS SEGMENTACIÓN DE IMÁGENES A COLOR.

En este capítulo se presentan una revisión del estado del arte de los principales métodos utilizados en la segmentación de imágenes a color, en este caso de imágenes obtenidas de células serosas y citología bronquial; además es realizada una introducción acerca de los espacios de colores, haciendo énfasis en los de interés para este trabajo. También se incluyen en este capítulo un estudio de las principales definiciones para la evaluación de los algoritmos de segmentación propuestos.

1.1 Aspectos generales de la citología bronquial.

La citología es una técnica que consiste en observar células a través del microscopio para estudiar su morfología; es empleada en numerosas especialidades médicas y quirúrgicas. Se recoge material desprendido espontáneamente o en forma inducida de las superficies de los órganos y de esta forma las células descamadas de estos son analizadas [1, 2]:

• Raspado: Cervicouterina, Cavidad Oral, Bronquio.

• Líquidos: Orina, Líquido Cefalorraquídeo, De cavidades corporales (pleura, peritoneo), punción de un quiste.

El objetivo básico de la Citología es diferenciar entre una población celular normal, una respuesta citológica inflamatoria y una población celular neoplásica. Esta información que es obtenida de una manera rápida y poco agresiva es en muchos casos suficiente y valiosa permitiéndonos establecer un diagnóstico y pronóstico preliminar del proceso, dar una pauta en relación a los posibles tratamientos y determinar cuáles son los procedimientos

diagnósticos a realizar seguidamente (cultivo microbiológico, test serológicos, histopatología, etc.) [1].

La técnica de raspado es utiliza en lesiones externas, biopsias por escisión (tanto para piezas de resección quirúrgica como muestras de necropsia), sobre superficies mucosas. Se debe limpiar la zona y eliminar sangre, costras o exudados y posteriormente realizar el raspado superficial de la masa con un escarpelo romo, una hoja de bisturí o con el borde de un portaobjetos extendiéndolo posteriormente sobre otro portaobjetos cuidadosamente en una delgada capa [2].

En el caso de la citología exfoliativa la extensión de células se obtiene directamente del epitelio o mucosa que se desea estudiar, mediante la aplicación de una torunda de algodón o un leve raspado, para su posterior estudio microscópico. En general se utilizan como técnicas de diagnóstico de cáncer, como paso previo a la biopsia para realizar el estudio de extensión. Estas pueden obtenerse de cualquier epitelio o mucosa y algunas de las más utilizadas son la citología cervical y la citología bronquial, esta última la de mayor interés para nuestro trabajo [3].

La citología bronquial es la que la muestra se puede obtener directamente del esputo del paciente o, mediante un broncoscopio, del lavado bronco alveolar o del cepillado de la mucosa bronquial y que se utiliza para descartar cáncer de pulmón, ver figura 1.1.



Figura 1.1. Muestra de células obtenidas de la citología bronquial.

1.2 Particularidades acerca de las células serosas en las glándulas salivales.

Las glándulas salivales en diversas especies biológicas son glándulas exocrinas en el sistema digestivo superior que producen la saliva que vierten en la cavidad oral. Estas se clasifican en dos categorías: glándulas salivales menores y glándulas salivales mayores. Las menores están localizadas en la mucosa y se abren, bien directamente o bien por pequeños conductos, a la superficie del epitelio bucal. Segregan de forma continua, contribuyendo a la saliva que humedece y lubrifica la cavidad bucal. Las glándulas salivales mayores son las glándulas parótida, submandibular y sublingual [4].

Las glándulas salivales mayores son glándulas mixtas en las cuales las porciones secretoras son acinos ovoides o alongados que se encuentran al final de un sistema de conductos con varios grados de ramificaciones. Algunos acinos están hechos exclusivamente de células serosas, mientras que otros lo están de células mucosas, siendo otros acinos seromucosos en los cuales el extremo proximal contiene células mucosas y está revestido por una capa semilunar de células serosas denominada medialuna serosa [5].

1.2.1 Células serosas.

Las células serosas de la glándula submandibular humana tienen finos procesos a modo de pie que se irradian y extienden lateralmente interdigitándose con los de las células vecinas. Esta especialización incrementa considerablemente la superficie de membrana próxima al suministro sanguíneo pudiendo aumentar con ello la eficacia del transporte de agua y de electrólitos. La superficie luminar de las células serosas contiene muchas pequeñas microvellosidades, que se extienden en los canalículos secretores. Todas las células serosas, cuyos límites intercelulares son poco visibles, dirigen su vértice hacia una pequeña luz en el centro del acino seroso que se continúa con el conducto intercalar, ver figura 1.2 [4, 5].



Figura 1.2. Muestra de células serosas extraídas de las glándulas submandibulares humanas.

1.3 Uso de la microscopía en la adquisición de imágenes

La microscopía es la técnica de producir imágenes visibles de estructuras o detalles demasiado pequeños para ser vistos a simple vista [6].

1.3.1 Microscopio Óptico.

En el microscopio distinguimos un sistema óptico destinado a la iluminación y obtención de una imagen muy aumentada del objeto examinado y un sistema mecánico (o montura), cuya finalidad es la de sustentar convenientemente los elementos ópticos y los preparados que se examinan. La parte óptica fundamental del microscopio está formada por dos sistemas centrados de lentes de aumento o convergentes: el objetivo y el ocular, y por el aparato de iluminación, que facilita y mejora la observación microscópica [7]. A continuación se muestran las partes de este microscopio en la figura 1.3:



Figura 1.3. Partes del Microscopio Óptico.

Dentro de la microscopía óptica se puede distinguir, según el número y posiciones de lentes, el microscopio simple y el compuesto. El microscopio compuesto, también conocido como microscopio clínico, se utiliza especialmente para examinar objetos transparentes, o cortados en láminas tan finas que se transparentan, por lo que permite observar las estructuras internas de los tejidos y con ello la observación de algunos patógenos asociados.[8].

1.4 Procesamiento Digital de Imagen.

Las técnicas de procesamiento digital de imágenes constituyen una solución efectiva para reducir los errores humanos presentes en el análisis de los resultados de imágenes de microscopia celular. Por otra parte debido a la automatización se incrementan la eficiencia y eficacia del proceso [9].

El uso del color en el procesamiento de imágenes está determinado por dos factores principales: el primero es que el color es un poderoso descriptor que a menudo simplifica la identificación y extracción de objetos, y el segundo factor es que el ojo humano puede discernir muchos más colores (del orden de miles de combinaciones de intensidad y color) que niveles de grises (algo más de veinte) [9].

1.4.1 Imagen digital.

Para que se pueda comprender los métodos de procesamiento digital de imágenes se debe comenzar por el concepto de imagen digital. Por lo cual esta se define como una función de dos variables, f(x, y), donde x e y son coordenadas espaciales y el valor de f en un punto dado es la intensidad de la imagen en dicho punto [10].

Una imagen digital en color es una función bidimensional con valor tridimensional como se muestra en la ecuación 1.1:

$$f: Z^2 \to Z^3 \tag{1.1}$$

En donde cada píxel X=(x, y) se encuentra representado por un vector de tres componentes $P = (I_1, I_2, I_3)$. El valor de cada una de las componentes depende del espacio de color (RGB, HSV, CIELAB,...) con el que se esté visualizando y/o tratando la imagen. En el caso de que la imagen sea en escala de grises se habla del nivel de gris, por tanto las operaciones sobre imagen en escala de gris se pueden aplicar a imágenes en colores procesando cada una de sus componentes por separado[11].

Una imagen binaria es una imagen digital que tiene únicamente dos valores posibles para cada píxel. Normalmente, los colores utilizados para su representación son negros y blancos, aunque puede usarse cualquier pareja de colores. Uno de los colores se emplea como fondo y el otro para los objetos que aparecen en la imagen [12, 13].

El tratamiento digital de imágenes contempla el procesamiento y el análisis de imágenes. El procesamiento está referido a la realización de transformaciones, restauración y mejoramiento de las imágenes. Su análisis en la extracción de propiedades y características, así como la clasificación e identificación [9].

1.5 Espacios de colores.

Debido a las características del ojo humano y a la teoría tricromática, todos los colores que se pueden reconocer en una imagen son una combinación de los llamados colores primarios: R (Red/Rojo), G (Green/Verde) y B (Blue/Azul). El objetivo de un modelo de color es facilitar la especificación de los colores de una forma normalizada y aceptada genéricamente. En esencia, un modelo de color es la especificación de un sistema de

coordenadas tridimensional y de un sub-espacio de este sistema en el que cada color queda representado por un único punto. Entre los espacios de colores más utilizados frecuentemente para el procesamiento de imágenes se encuentran el RGB, HSV, YMC y CIEL*a*b*, entre otros [14].

1.5.1 Espacio RGB.

En el modelo RGB cada color aparece en sus componentes espectrales primarias: rojo, verde y azul. Este modelo está basado en el sistema de coordenadas cartesianas. El subespacio de color de interés es el mostrado en el tetraedro en la figura 1.4, en el cual los valores RGB están en tres vértices; cian, magenta y amarillo se sitúan en otros tres vértices, el negro corresponde al origen y el blanco se sitúa en el vértice más alejado del origen. En este modelo, la escala de grises ese extiende desde el negro al blanco a lo largo de la diagonal que une esos dos puntos, y los colores son puntos dentro del tetraedro definidos por los vectores desde el origen [13, 15].

Dentro de las funciones o propósitos del modelo RGB se puede encontrar la detección, representación y exhibición de imágenes en sistemas electrónicos e informáticos, tales como televisores y computadoras, aunque también es utilizado para la grabación de los colores en las cámaras digitales, incluyendo cámaras de vídeo e imágenes fijas.



Figura 1.4. Representación del espacio de color RGB.

1.5.2 Espacio HSV.

El modelo HSV (del inglés *Hue, Saturation, Value*), presenta tres componentes, la primera Tinte, que se representa como un grado de ángulo cuyos valores posibles van de 0 a 360°. La segunda componente se le llama Saturación y se representa como la distancia al eje de brillo negro-blanco, sus valores posibles van del 0 al 100%. La tercera componente se le llama Valor y representa la altura en el eje blanco-negro, sus valores posibles van del 0 al 100%. O siempre es negro. Dependiendo de la saturación, 100 podría ser blanco o un color más o menos saturado [12].



Figura 1.5. Representación del espacio HSV, (a) rueda cromática, (b) sólido del modelo de color HSV

La obtención a partir de RGB de las coordenadas de color en el espacio HSV se muestran en la tabla 1.1, esta es una de las posibilidades ya que se pueden encontrar diferentes versiones de estos espacios [15].

Tabla1.1. Cálculo de coordenadas H, S y V a partir RGB, con $M = max\{R, G, B\}$ y $m = min\{R, G, B\}$.

Espacio	Tinte	Saturación	Valor
HSV	$H = \tan^{-1}(\frac{\sqrt{3}(G-B)}{2R-G-B})$	$S = \frac{M - m}{M}$	V = M

Este modelo es ampliamente utilizado en aplicaciones de tratamiento de color, ya que permite escoger el color por medio de deslizadores lineales o entradas numéricas, ejemplo

las aplicaciones gráficas de Adobe (*Illustrator*, *Photoshop*). De forma general este modelo se utiliza en las paletas de selección de color en los programas de edición gráfica, análisis de imagen y visión por computador [9].

1.5.3 Espacio L*a*b*.

El CIE L*a*b* (CIELAB) es el modelo cromático usado normalmente para describir todos los colores que puede percibir el ojo humano. Fue desarrollado específicamente con este propósito por la *Commission Internationale d'Eclairage* (Comisión Internacional de la Iluminación), razón por la cual se abrevia *CIE*. [16, 17]

El color percibido por el ojo humano representa la luz que reflejan los objetos o la luz que no es absorbida por ellos, cada color tiene una longitud de onda específica. Sin embargo, la longitud de onda puede ser de una luz infrarroja, visible, ultravioleta o blanca, el rango de la longitud de onda de luz visible está de los 380 nm a los 780 nm. La retina humana tiene tres celdas cónicas foto receptoras de luz. El espacio de color CIELab pretende emular la forma en la que los humanos percibimos el color, localizándose los colores en este espacio de manera más intuitiva[17].

De manera común, las escenas captadas por cámaras se descomponen en valores de color rojo, verde y azul, teniéndose para cada píxel de la imagen tres coordenadas R, G y B.

El espacio de color CIELab está basado en los colores primarios imaginarios *XYZ*, por lo tanto del espacio *RGB* que tenemos al recibir la imagen, debemos pasarla al espacio *XYZ*. Para ello se emplea la transformación siguiente [17]:

$$\begin{bmatrix} X \\ Y \\ Z \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0.6070 & 0.1734 & 0.200 \\ 0.2990 & 0.5864 & 0.1146 \\ 0.000 & 0.0661 & 1.1175 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} R \\ G \\ B \end{bmatrix}$$
(1.2)

Obteniéndosex, y y z con la matriz de transformación podemos pasar al espacio CIELab con las ecuaciones (1.4-1.7) de transformación.

$$L = 116 * \left(\frac{Y}{Y_n}\right)^{\frac{1}{8}} - 16 \qquad para\left(\frac{Y}{Y_n}\right) > 0.008856 \tag{1.3}$$

$$L = 903.3 * \left(\frac{Y}{Y_n}\right) \qquad en \ otro \ caso \tag{1.4}$$

$$a = 500 * \left[f\left(\frac{X}{X_n}\right) - f\left(\frac{Y}{Y_n}\right) \right]$$
(1.5)

$$b = 200 * \left[f\left(\frac{Y}{Y_n}\right) - f(Z/Z_n) \right]$$
(1.6)

En donde x_n , y_n y z_n son los valores triestímulo tomando como referencia el color blanco definidos como:

$$X_n = 1$$
 $Y_n = 0.98072$ $Z_n = 1.18225$

Obteniéndose de esta manera los valores L, a y b

L corresponde al valor de la luminancia y tiene valores en un rango de 0 a 100, del color negro al blanco. Por otra parte, $a \neq b$ son los valores cromáticos; a va de -137.692° hasta 96.187° y denota la intensidad del color rojo al verde. La componente b cubre el rango de valores desde -99.215° hasta 115.653°; este rango corresponde al color azul (para valores negativos) y al amarillo (para valores positivos) [14].



Figura 1.6. Representación del espacio L*a*b*.

1.6 Métodos de segmentación.

La segmentación es el proceso que subdivide una imagen en sus partes constituyentes u objetos, y es uno de los elementos fundamentales en al análisis automatizado de imágenes, debido a que es en esta etapa donde se extraen los objetos de interés para un procesado posterior, como puede ser su descripción y reconocimiento. El proceso de segmentación termina cuando los objetos de interés para una aplicación han sido aislados. En la práctica suelen distinguirse dos tipos de segmentación: de regiones o áreas y de objetos. La operación es común, lo que varía es aquello que se desea segmentar, [18, 19].

Sea R la región correspondiente a la imagen a segmentar. Vamos a ver el proceso de segmentación como un proceso en el cual dividimos la región *R* en *n* subregiones *R1*; *R2*,... Rn, tal que [18]:

- $1.\bigcup_{i=1}^{n}R_{i}=R.$
- $2.R_i$ Es un conjunto conectado, i = 1, 2, ..., n.
- $3.R_i \cap R_j = \emptyset \text{ para todo i } y j, i \neq j.$
- 4. $(R_i) = \text{VERDADERO para } i = 1, 2, \dots, n.$
- 5. $P(R_i \cup R_j) = \text{FALSO.}$

Para todo i y j adyacentes con $j \neq i$; donde P (.) es un predicado lógico definido sobre la partición de R y Ø es el conjunto vacío, \cup representa la unión y \cap la intercepción.

La condición (1) indica que la segmentación debe ser completa y que cada píxel debe estar contenido en la región. La condición (2) refiere que cada punto en una región debe estar conectado en algún punto predefinido (los puntos deben tener conexión 4 u 8). En la condición (3) se indica que las regiones deben ser disjuntas, la (4) trata sobre las condiciones que deben cumplir los píxeles en una región segmentada y la (5) indica que las dos regiones adyacentes R_i y R_j no deben ser iguales en el sentido del predicado P [18].

En la literatura se puede encontrar disímiles formas de segmentación, las cuales tienen una gran importancia a la hora del trabajo con imágenes de microscopía celular. Entre ellas se podría referir a la técnica de segmentación basada en la información del histograma, del color, crecimiento de regiones o agrupamiento y otras que aplican la inteligencia artificial.

1.6.1 Segmentación de acuerdo a la información de color.

En el procesamiento digital de imágenes cuando se trata del empleo del color en la literatura se comenta de dos factores esenciales [18, 20]:

- 1.El color es un fuerte descriptor que ofrece una simplificada identificación del objeto, facilitando la extracción del mismo de la escena.
- 2. El ser humano puede discernir miles de capas de intensidades de color y tan solo dos docenas de niveles de gris, siendo esto muy importante para el análisis de las imágenes cuando se realizan de forma manual.

Para el caso de la segmentación de acuerdo a la información de color se cuenta la literatura con varias técnicas, a algunas de estas se hará referencia en este epígrafe. Una técnica clásica para la segmentación de color de la imagen es el algoritmo de k-means (C-means), ampliamente adoptado también para la cuantificación de vectores y compresión de datos [21]. Para imágenes en color han surgido nuevas estrategias interesantes de segmentación basada en el crecimiento de regiones, en este algoritmo sugiere la necesidad de determinar un número limitado de clases de colores dentro de una imagen a través de la cuantificación de color y proponer un criterio para una buena segmentación [22]. En la segmentación a partir de la información del histograma, en el caso de imágenes en color, las cosas son un poco más complicadas, se tiene que identificar diferentes partes de una escena por la combinación de picos y valles de tres histogramas o por partición del histograma en 3D. Un problema común con las técnicas de histograma, es que a menudo a causa de ruido, los perfiles de los histogramas son bastante irregulares dando lugar a picos espurios y por lo tanto la segmentación es imprecisa; para evitar que esto suceda, se adoptan algunas técnicas de suavizado previo a la segmentación [23, 24]. En este trabajo se hará uso de la distancia de Mahalanobis para la segmentación de las imágenes. Esta será explicada en el capítulo siguiente.

1.6.2 Segmentación por comparación con umbrales.

El uso de la comparación con umbrales constituye la base de un conjunto de algoritmos de segmentación de imágenes. Los umbrales se utilizan tanto en imágenes en escala de grises como a color, su uso específico está determinado por la formulación del algoritmo de segmentación. En la segmentación por comparación con umbrales, se trata de subdividir una imagen en regiones sobre la base de los valores de la intensidad y sus propiedades.

Las técnicas de umbrales se basan en el uso de las propiedades de los histogramas de las imágenes, principalmente cuando estos son bimodales (es decir, cuando los histogramas presentan dos máximos bien definidos). Si la imagen contiene un objeto y un fondo con intensidades homogéneas, la misma usualmente posee un histograma bimodal, como el que muestra la Figura 1.7 [25]:



Figura 1.7.Muestra de un umbral bimodal. (a) Imagen en escala de grises, (b) Histograma bimodal con umbral T señalizado.

Si el histograma es bimodal, es posible determinar un valor de umbral T, ecuación (1.9) que permita clasificar los píxeles como pertenecientes al fondo o al objeto que se desea segmentar (el primer plano).Una forma obvia de separar los objetos del primer plano con respecto al fondo en la imagen, es seleccionar un umbral que separe dichas regiones sobre la base de la intensidad de los píxeles [26].

Cualquier punto de la imagen (píxel) tal que f(x, y) > T es clasificado como un punto del objeto, de lo contrario si $f(x, y) \le T$ el píxel dado pertenece al fondo. Se construye así la función [26]:

$$g(x,y) = \begin{cases} 1, & f(x,y) > T \\ 0, & f(x,y) \le T \end{cases} (1.7)$$

La función g(x, y) se puede utilizar como máscara para extraer de la imagen los objetos de interés.

Para la realización de este método de segmentación los algoritmos más utilizados según la bibliografía consultada son el método de Otsu y el método Iterativo, este último fue el

escogido para este trabajo, en el capítulo siguiente se procederá a su descripción más profunda [27].

1.6.3 Segmentación basada en agrupamiento (clustering).

Los algoritmos de *clustering* o agrupamiento parten de un conjunto de vectores de características (uno por cada grupo o clúster) y van clasificando los píxeles de la imagen dentro de categorías asociadas a dichos vectores. Cada píxel se asigna al grupo al que es más parecido, lo cual traduce en asociarlo al grupo cuyo centro tiene menor distancia. Normalmente son procesos iterativos en los que se refina la clasificación e incluso puede variar el número de grupos existentes. Dos cuestiones que deben determinar este tipo de técnicas son la determinación del número de grupos y la selección de una condición de parada. Dentro de estas se encuentra diferentes propuestas como el algoritmo de K*-means* y el de ISODATA [26, 28].

1.6.4 Uso de la Inteligencia Artificial (IA) en el procesamiento de imágenes.

La IA es, con toda seguridad, el intento más ambicioso de los que aborda la informática. Superado el estadio de construir máquinas más fuertes y rápidas que su propio constructor, al ser humano todavía le queda el reto de construir máquinas que al menos parezcan inteligentes, como se supone que sean los humanos [29].

La aplicación de técnicas y métodos de la IA en el procesamiento digital de imágenes se basa en implementar, computacionalmente una secuencia de procedimientos metodológicamente establecida [30].

- Búsqueda de descriptores.
- Segmentación.
- Reconocimiento.
- Extracción y medición de las características.

De la misma manera que la informática tradicional se compone de algoritmos que operan sobre determinadas estructuras de datos, la técnica propia de la IA es obtener una adecuada representación simbólica del conocimiento. También es posible aplicar tanto los mecanismos de la inferencia simbólica, propios del razonamiento deductivo, como los mecanismos de tipo empírico que forman la base de la búsqueda heurística de soluciones. La heurística se podría definir como el conjunto de los criterios, métodos o principios que se utilizan para encontrar, de entre varios caminos posibles, cuál o cuáles son los más efectivos para obtener un objetivo determinado [31].

En el área que nos ocupa, la de la optimización, los heurísticos son técnicas que suelen ayudar a optimizar un problema, habitualmente tomando soluciones aleatorias y mejorando progresivamente mediante el heurístico en cuestión [32].

Características de la heurística de optimización.

Si se parte de una única solución aleatoria y las nuevas soluciones propuestas por el heurístico en dependen, se corre el riesgo de quedarse estancado en un óptimo local. Por este motivo tales métodos se suelen denominar métodos locales, en contraposición de los métodos globales, que suelen generar diversas soluciones aleatorias independientes y, por tanto pueden explorar diferentes áreas del espacio de soluciones; así evitan, en la medida de lo posible, limitarse a un óptimo local determinado [33]

Otro aspecto común a los métodos metaheurísticos que se estudiarán en este apartado es su naturaleza iterativa, lo que lógicamente lleva a la cuestión del número de iteraciones que deberá ejecutar cada algoritmo. Por lo tanto, es necesario fijar algún criterio de terminación del algoritmo. Entre los criterios más habituales se encuentran [32]:

- Alcanzar un valor predeterminado de la función objetivo (por ejemplo, un error<E).
- Un número fijo de iteraciones.
- Un tiempo de ejecución total determinado.
- Observar una tendencia en las soluciones obtenidas (no se observa mejora durante n iteraciones).

Basados en la búsqueda heurística de soluciones podemos encontrar los algoritmos bioinspirados que agrupan una serie de algoritmos que, de una forma o de otra, están inspirados en algún comportamiento de los seres vivos, o simplemente grupos grandes de elementos regidos por las leyes de la física. Dentro estos algoritmos los más empleados en la literatura son el algoritmo de colonias de hormigas, el algoritmo genético, optimización mediante multiplicadores de Lagrange y el empleado este trabajo que es el de optimización por enjambre de partículas [30].

1.7 Medidas para la evaluación de algoritmos de segmentación.

El desarrollo de algoritmos de segmentación es un área en el que se lleva empleado mucho esfuerzo. No obstante, es patente que hay menos interés puesto en la evaluación precisa de estos algoritmos que en su desarrollo. En este epígrafe haremos referencia de algunas de los métodos utilizados en la evaluación de algoritmos de segmentación [34].

Tanto para el análisis de datos como para la estadística matemática, las medidas de distancias estadísticas constituyen una herramienta muy poderosa a la hora de evaluar un algoritmo de segmentación. Mediante una distancia se pueden comparar parámetros, estudiar propiedades asintóticas e incluso construir contrastes de hipótesis [35].

Una distancia ρ sobre un conjunto *N* es una aplicación de *NxN* en R tal que cada par (i, j) hace corresponder un número real $\rho(i,j) = (\rho_{i,j})$, cumpliendo con algunas de las propiedades siguientes [36]:

 $1.\rho_{ij} \ge 0$ $2.\rho_{ij} = 0$ $3.\rho_{ij} = \rho_{ji}$ $4.\rho_{ij} \le \rho_{ik} + \rho_{jk}$ $5.\rho_{ij} = 0 \text{ Si y solo si } i = j$ $6.\rho_{ij} = \max \rho_{ik}, \rho_{jk} \text{ (Desigualdad ultramétrica)}$ $7.\rho_{ij} + \rho_{kl} \le \max\{\rho_{ik} + \rho_{jl}, \rho_{il} + \rho_{jk}\} \text{ (Desigualdad aditiva)}$ $8.\rho_{ij}\text{ Es euclidiana}$ $9.\rho_{ij}\text{ Es riemanniana}$ $10. \rho_{ij}\text{ Es divergente}$

Entonces la clasificación de una distancia vendría dada en dependencia de las propiedades que esta cumpla, como se muestra a continuación,

- ≻Disimilaridad: P.1, P.2, P.3
- Distancia métrica: P.1, P.2, P.3, P.4, P.5

Distancia euclidiana: P.1, P.2, P.3, P.4, P.8
Distancia aditiva: P.1, P.2, P.3, P.7

Una similaridad *s* sobre un conjunto Ω con *n* individuos, es una aplicación de $\Omega x \Omega$ en R verificando las propiedades siguientes[36]:

 $1.0 \le s_{ij} \le 1$ $2.s_{ii} = 1$ $3.s_{ij} = s_{ji}$

El grado de semejanza entre dos elementos *i*, *j*, viene dado por la cantidad $s_{ij} = s(i, j)$, en el sentido de que si ambos se asemejan lo suficiente entonces s_{ij} se aproxima a "1". Esto de la similaridad entre dos objetos *i*, *j*, quedaría bien descrita a través de las variables a, b, c, d, que pertenecen a la matriz de confusión o estándar dorado, como se muestra en la figura 1.8 [37].



Figura 1.8. Matriz de confusión.

Donde,

$$a = \sum_{k=1}^{n} x_{jk} x_{jk}$$
(1.8)

$$b = \sum_{k=1}^{p} (1 - x_{jk}) x_{jk}$$
(1.9)

$$c = \sum_{k=1}^{p} x_{jk} (1 - x_{jk})$$
(1.10)

$$d = \sum_{k=1}^{p} (1 - x_{jk})(1 - x_{jk})$$
(1.11)

En las ecuaciones anteriores (1.8-1.11) se representan los valores de los píxeles de una imagen segmentada *Y* como "1" los píxeles que corresponden con el objeto y "0" para los que pertenecen al fondo; *X* representa el estándar dorado con el que se compara la imagen *Y*, lo que brindará los siguientes valores representados en la tabla 1.2:

Variables	x _i	y _i	Ocurrencia
a	1	1	VP
b	0	1	FP
С	1	0	FN
d	0	0	VN

Tabla1.2. Posibles eventos a partir de la matriz de confusión.

VP: Verdaderos Positivos.

FP: Falsos Positivos.

FN: Falsos Negativos.

VN: Verdaderos Negativos.

1.8 Conclusiones del Capítulo.

En este capítulo se ha realizado una breve descripción acerca de la citología bronquial y algunos aspectos de las células serosas presentes en las glándulas salivales, concluyendo que con un diagnóstico temprano, enfermedades como el cáncer puedan ser detectados en

un estadio temprano. También se trató los diferentes métodos de segmentación haciendo énfasis en las segmentaciones que utilizan las informaciones que brindan los colores. Por este motivo se concluye que algoritmos que emplean los métodos de segmentación: umbral, agrupamiento, segmentación a través de distancias e inteligencia artificial podrían ser propuestos para un estudio inicial de segmentación de células de citología bronquial y serosa, evaluando los algoritmos a través distancias que empleen la matriz de confusión.

CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS

En este capítulo se realiza una descripción y análisis de los algoritmos escogidos en la revisión teórica: método umbral (iterativo), método de agrupamiento (agrupamiento de píxeles por k-means), método a partir de la información de color (distancia de Mahalanobis) y un método de optimización de inteligencia artificial (*Particle Swarp Optimization*). El autor realiza una evaluación de estos métodos de segmentación en los tres espacios de color (RGB, HSV y CIELAB) empleando medidas estadísticas como sensibilidad, precisión, los coeficiente de Jaccard, Dice, y Vinet. En esta etapa de la investigación se describe el proceso desarrollado para la etapa de experimentación.

2.1 Descripción de las bases de datos.

Para la realización de este trabajo se hizo una búsqueda de las imágenes a emplear como muestra para la segmentación. Estas imágenes deberían estar acompañadas de la segmentación realizada por los expertos las cuales se escogería como el estándar dorado para la evaluación de los algoritmos. Así se seleccionaron dos bases de datos de imágenes creadas por un mismo autor, Oliver Lezoray. La descripción de estas bases de datos se les ofrece continuación:

Base de dato 1: Base de datos de imágenes microscópicas de citología serosa, véase anexo I.

Esta base de datos contiene 10 imágenes microscópicas en el espacio de color RGB de la citología serosa. Esta ofrece un estándar dorado para la segmentación de cada imagen. Cada región que identifica un objeto en el estándar dorado corresponde a un núcleo determinado y tiene una etiqueta específica. El fondo tiene la etiqueta de cero. La figura 2.1 ilustra los efectos del proceso de tratamiento de la imagen: la extracción de los componentes

celulares. Se debe tener en cuenta que en este proceso de segmentación, el citoplasma también se extrae, pero no está disponible en el estándar dorado.



Figura. 2. 1. Imágenes de citología serosa. (a) Imagen original, (b) Estándar dorado (c) Imagen segmentada.

Base de dato 2: Base de datos de imágenes microscópicas de citología bronquial, véase anexo II.

Esta base de datos contiene 8 imágenes microscópicas en el espacio de color RGB de la citología bronquial. Esta dispone de un estándar dorado para cada imagen en tres clases (núcleo, citoplasma, y de fondo píxeles). Los píxeles tienen una etiqueta especificando sus clases (2: Núcleo, 1: citoplasma, 0: fondo). La figura 2.2 ilustra los efectos del proceso de tratamiento de la imagen: la clasificación de píxeles.



Figura. 2.2. Imágenes de citología bronquial. (a) Imagen original, (b) Estándar dorado, (c) Imagen segmentada.

2.2 Métodos de segmentación.

Para segmentar una imagen, basándose en la información de color, existen diversos métodos. Estos son eficientes en dependencia de las propiedades presentada por la imagen que se desee segmentar (contraste, entropía, tipo de iluminación entre otros). Para esta investigación se tomó la decisión de escoger cuatro de los tantos métodos existentes. Los métodos de segmentación escogidos por clasificación fueron:

- ≻ Método Umbral (Iterativo).
- Método Distancia de color (Mahalanobis)
- Método de Agrupamiento (K-means)
- Métodos de Inteligencia Artificial (*Particle Swarp Optimization*)

Estos serán ejecutados a través de los tres espacios de color seleccionados por el autor, RGB, HSV y CIELAB. En este proceso se permitirá realizar una evaluación de la calidad de la segmentación de un mismo algoritmo en los tres espacios para obtener el de mejor desempeño. Después se evaluarán los algoritmos resultantes para obtener el de mejor calidad de segmentación de todos.

2.2.1 Método Umbral.

Los diferentes métodos de segmentación presentados en este apartado sientan sus bases en la información que se brinda por el histograma de la imagen. Esta información es necesaria para que se pueda realizar una segmentación correcta de la región de interés y el fondo. Es preciso que se resalte la importancia que tiene la información de luminancia que manifiesta la imagen. Esto se debe a que si en la imagen no existe un contraste entre los píxeles que representan el objeto, así como los representados por el fondo, estos métodos pueden no detectar los bordes y como consecuencia realizarán una mala segmentación. Las ventajas de estos algoritmos vienen dadas por su bajo costo computacional y la facilidad de su diseño de códigos. A continuación se describirá el método seleccionado para esta investigación [12, 26].
2.2.1.1 Método iterativo.

Para la implementación de este método es necesario primeramente definir inicialmente un umbral *T(global)*, en la literatura se recomienda utilizar el valor medio de la intensidad de la imagen. Una vez que se define este umbral, véase ecuación 1.9 del capítulo 1, se segmenta la imagen a partir del mismo, obteniéndose dos regiones definidas [26]:

De esta manera se calcula el valor medio de la intensidad en cada región; m_1 para C_1 y m_2 para C_2 , y se calcula un nuevo umbral mediante la ecuación 2.1.

$$T = \frac{(m_1 + m_2)}{2} \tag{2.1}$$

Entonces, se segmenta la imagen nuevamente y se calcula el valor medio hasta que se cumpla la condición que se muestra en la ecuación 2.2:

$$|T_i - T_{i-1}| \le \delta, \qquad (2.2)$$

Donde t, representa el número de orden de la iteración. Se puede decir que el algoritmo funciona correctamente cuando existe en el histograma de la imagen un "valle" bien definido entre los modos o picos. El parámetro δ controla la rapidez con que el algoritmo converge a un valor del umbral. A mayor δ , la convergencia es más rápida y el valor del umbral obtenido difiere más del valor final al que llegaría el algoritmo en una cantidad infinita. En la práctica, estas iteraciones suelen ser suficientemente grandes [26].

2.2.2 Método empleando la información de color y la distancia Mahalanobis.

En estadística, la Distancia de Mahalanobis es una medida de distancia creada por Prasanta Chandra Mahalanobis, quien nació en 1893 y murió en 1972. Fue un científico de la india que se destacó en la estadística aplicada. Esta medida de distancia fue introducida por Mahalanobis en 1936 y su utilidad radica en que es una forma de determinar la similitud entre dos variables aleatorias multidimensionales [38]. Para comprender esta medida es muy importante que se comprenda las definiciones y descripciones de tipos de variables, pues se trata de encontrar las correlaciones entre estas variables [39].

2.2.2.1 Tipos de variables.

Existen tres clases de variables como son: variable aleatoria, variable aleatoria discreta y variable aleatoria continua. Estas serán explicadas a continuación [40].

Variable aleatoria:

Esta cuantifica los resultados de un experimento aleatorio y toma diferentes valores como resultados tiene un experimento dado. Matemáticamente se define en la ecuación 2.3[41].

$$X: \Omega \to \mathbb{R} \tag{2.3}$$

Con esta ecuación se obtiene como resultado un valor numérico que se encuentra en el conjunto de los reales a cada suceso en el espacio Ω [42].

Variable aleatoria discreta:

Variable que toma un número finito o infinito de valores numerables.

Variable aleatoria continúa:

Variable que toma un valor infinito de valores no numerables. Variable aleatoria que puede tomar cualquier valor dentro de un intervalo dado de valores.

2.2.2.2 Propiedades de la Distancia de Mahalanobis.

Algunas de las propiedades con las que esta distancia debe cumplir se explican a continuación:

 Semipositividad: La distancia entre dos puntos de las mismas coordenadas es cero y si existen coordenadas diferentes la distancia es positiva pero nunca negativa. Matemáticamente esto se ve expresado en las ecuaciones 2.4 y 2.5.

$$d(a,b) \ge 0 \forall a, b \in X \tag{2.4}$$

$$d(a,b) = 0 \text{ si } a = b \tag{2.5}$$

2. Simetricidad: Se dice cuando la distancia entre *a* y *b* es la misma que entre *b* y *a*. Su representación matemática se observa en la ecuación 2.6.

$$d(a,b) = d(b,a) \forall a, b \in X$$
(2.6)

3. Desigualdad triangular mostrada en la ecuación 2.7.

$$d(a,b) \le d(a,c) + d(c,b) \forall a,b,c \in X$$

$$(2.7)$$

Para segmentar una imagen a partir de la información de color la distancia de Mahalanobis, mostrada en la ecuación 2.8, es calculada en cada píxel de la imagen y para cada componente de color [43].

$$D = \sqrt{(x-\mu)^T C^{-1} (x-\mu)}$$
(2.8)

Donde,

- > x es un vector multidireccional $x = (x_1, x_2, \dots, x_n)^T$, del cual se determina la distancia.
- $\succ \mu$ es un vector de las medias de referencia en todas las abscisas.
- **≻***C*es la matriz de covarianza.

La matriz de covarianza se asemeja a la distribución estadística de los puntos de referencia en el área seleccionada. Para un espacio bidimensional, como lo son las imágeneslog HS $(x - \mu)^T = [H - EH, S - ES]$, la matriz de covarianza (C), está definida de la siguiente manera, ecuación (2.9); en donde las ecuaciones (2.10 - 2.12) muestran los componentes que la forman.

$$C = \begin{bmatrix} \sigma_h^2 & cov(h, s) \\ cov(s, h) & \sigma_s^2 \end{bmatrix}$$
(2.9)

Donde,

$$\sigma_h^2 = E[(H - e(H)^2)]$$
(2.10)

$$\sigma_s^2 = E[(S - e(S)^2)]$$
(2.11)

$$cov(s,h) = cov(h,s) = [(H - EH)(S - ES]]$$
 (2.12)

Se conoce que E es el valor esperado para 64 marcadores.

Las coordenadas del objeto, o sea, posición del píxel es determinada por su fila (x) y esto se muestra en la ecuación (2.13) y la columna (y), que es mostrada a partir de la ecuación (2.14). Si V(x,y) es el valor del píxel en la coordenada (x,y) entonces se puede determinar el centro de masa como se muestra en la ecuación (2.15).

$$x_c = \frac{m_{10}}{m_{00}} \tag{2.13}$$

$$y_c = \frac{m_{01}}{m_{00}} \tag{2.14}$$

$$M_{ij} = \sum_{x} \sum_{y} x^{i} \cdot y^{i} \cdot V(x, y), \quad i, j = 0, 1$$
(2.15)

2.2.3 Método de agrupamiento de píxeles.

El algoritmo estándar de k-*means* fue propuesto por primera vez por Stuart Lloyd en 1957 como una técnica para modulación por impulsos codificados. En 1965, E. W. Forgy publicó esencialmente el mismo método, por lo que a veces también se le nombra como Lloyd-Forgy. Una versión más eficiente fue propuesta y publicada en Fortran por Hartigan y Wong en 1975 y 1979 respectivamente [44].

El método *K-means* tiene como objetivo minimizar la suma del cuadrado de las distancias entre todos los puntos y el centro del clúster o grupo. Este procedimiento consiste en los siguientes pasos [45, 46]:

- 1. Elija K centros de clústeres iniciales $z_1(1), z_2(1), z_k(1),$
- 2. En el paso iterativo de orden K, distribuir las muestras [12] entre los grupos K utilizando la relación, $x \in C_j(k)$ si $||x z_j(k)|| < ||x z_i(k)||$

Para todo $i = 1, 2, ..., k; i \neq j;$

Donde,

 $C_i(k)$ denota el conjunto de muestras cuyo centro clúster es $z_i(k)$.

Se calculan los nuevos centros de los conglomerados $z_j(k + 1)$, j = 1, 2, ..., K tal que la suma de las distancias al cuadrado de todos los puntos en $C_j(k)$ para el nuevo centro de la agrupación sea mínimo. La medida que minimiza lo anterior es simplemente la media de la muestra de $C_j(k)$. Por lo tanto, el nuevo centro del cúmulo está dado por la ecuación 2.16.

$$z_j(k+1) = \frac{1}{N_j} \sum_{x \in C_j(k)} x, \quad \text{con } j = 1, 2, 3, \dots, K$$
(2.16)

Donde,

 N_i es el número de muestras en $C_i(k)$.

- 3. Si $z_j(k + 1) = z_j(k)$ para j = 1, 2, 3, ..., K, entonces el algoritmo ha convergido y el procedimiento está terminado.
- 4. De lo contrario, regresar al paso 2.

Se conoce que en esta descripción el resultado final dependerá del clúster inicial, el centro elegido y el valor de *K*. Este último es el de mayor preocupación ya que requiere algún conocimiento previo del número de grupos presentes en los datos, que en la práctica, es altamente poco probable [46].

Dentro de los principales problemas de este método tenemos lo computacionalmente complejo de implementar. Esto trae consigo el empleo de eficientes heurísticas para su convergencia rápida a un óptimo local. Este presenta similitudes con los algoritmos de Expectación-Maximización (EM) mezclas de distribución gaussiana por medio en un enfoque de refinamiento iterativo empleado por ambos, sin embargo k*-means* tiende a encontrar grupos de extensión comparable [47].

Después de conocer los pasos que se siguen en el algoritmo este se puede definir matemáticamente de la siguiente manera.

Dado un conjunto de observaciones $(x_1, x_2, ..., x_n)$ donde cada observación es un vector real de *d* dimensiones, *k*-means construye una partición de las observaciones, como se muestra en la ecuación 2.17, en *k* conjuntos $(k \le n)S = \{S_1, S_2, ..., S_k\}$.

$$\arg_{S} \min \sum_{i=1}^{k} \sum_{x_{j} \in S_{i}} \left\| x_{j} - \mu_{i} \right\|^{2}$$

$$(2.17)$$

Donde,

 μ_i es la media de los puntos en S_i .

Respecto a la complejidad computacional, el agrupamiento k-means para problemas en espacios de d dimensiones es:

- > NP-hard en un espacio euclidiano general d incluso para 2 grupos.
- NP-hard para un número general de grupos k incluso en el plano.
- ightarrow Si k y d son fijados, el problema se puede resolver en un tiempo.

Para calcular esta complejidad computacional se puede realizar a partir de la ecuación 2.18

$$O(n^{dk+1}\log n) \tag{2.18}$$

Donde,

n es el número de entidades a particional.

A continuación se presentan algunas de las variaciones implementadas por al método de ''k-means'' [48].

- Fuzzy C-Means Clustering es una versión difusa del K-means, donde cada punto tiene un grado difuso de pertenencia a cada grupo.
- Modelos de mezclas gaussianas entrenadas con el algoritmo EM presentan una asignación probabilística a cada grupo, en vez de asignaciones deterministas.
- Se puede escapar de óptimos locales intercambiando puntos entre los grupos.

Se han presentado varios métodos para elegir mejor los centroides iniciales. Una propuesta reciente es k-means++.

2.2.4 Método de segmentación por Particle Swarm Optimization.

Los métodos PSO se atribuyen originalmente a los investigadores Kennedy, Eberhart y Shi. En un principio fueron concebidos para elaborar modelos de conductas sociales. Posteriormente el algoritmo se simplificó y se comprobó que era adecuado para problemas de optimización. El libro de Kennedy y Eberhart describe numerosos aspectos teóricos de la PSO y la inteligencia de enjambre [49].

La inteligencia artificial es una rama de la informática que ha venido desarrollándose y con el tiempo ha incrementado las áreas de su aplicación con muy buenos resultados. Dentro de ella existen métodos de optimización empleados para realizar trabajo de búsqueda espacial con gran eficiencia. Uno de estos métodos es el llamado PSO el cual basa su funcionamiento en la manera en que grupos de animales se mueven para lograr un objetivo común. Este método se basa en las bandadas de pájaros [50].

Para que se conozca cómo es su funcionamiento se debe asumir que si S es el número de partículas (pájaros) en la nube, cada una de las cuales tiene una posición, $x_i \in \mathbb{R}^n$ en el espacio de búsqueda y una velocidad $v_i \in \mathbb{R}^n$. Sea p_i la mejor posición conocida de una partícula *i*, y *g* la mejor posición global conocida. Un algoritmo PSO básico se podría

describir como sigue [51]:

Para cada partícula i = 1, ..., S:

i. Inicializar la posición de la partícula mediante un vector aleatorio uniformemente distribuido:
 x_i~U(b_{li},b_{ls})

Donde, b_{li} y b_{ls} es el límite inferior y superior respectivamente, del espacio de búsqueda

- ii. Inicializar la mejor posición conocida de la partícula a su posición inicial: $p_i \leftarrow x_i$
- iii. Si $(f(p_i) < f(g))$ actualizar la mejor posición global conocida: $g \leftarrow p_i$
- iv. Inicializar la velocidad de la partícula: $v_i \sim U(-|b_{li} b_{ls}|, |b_{li} b_{ls}|)$

Mientras no se cumpla el criterio de parada:

Para cada partícula i = 1, ..., S:

- I. Para cada dimensión d = 1, ..., n:
 - Elegir números aleatorios: $r_p, r_q \sim U(0,1)$
 - Actualizar la velocidad de la partícula:
 v_{i,d} ← ωv_{i,d} + φ_pr_p (p_{i,d} x_{i,d}) + φ_gr_g (g_d x_{i,d})
- II. Actualiza la posición de la partícula: $x_i \leftarrow x_i + v_i$
- III. Si $(f(x_i) < f(p_i))$ entonces:
 - Actualizar la mejor posición conocida de la partícula: p_i ← x_i
 - Si (f(pi) ≤ f(g)) actualizar la mejor posición global: g ← p_i

IV. Devolver g como la mejor solución encontrada.

Elección de parámetros.

La elección de los parámetros es un aspecto determinante en el desempeño del algoritmo de optimización. Por ende, seleccionar un conjunto de parámetros que favorezcan un buen rendimiento del algoritmo es y ha sido objeto de abundantes investigaciones [52].

La función objetiva de forma instintiva da lugar a una hipersuperficie de tamaño semejante al número de variables de búsqueda. La irregularidad de esta hipersuperficie va a depender del problema en particular, de esta manera la eficacia de la búsqueda dependerá de cuán profunda sea esta, función de los parámetros escogidos. De esta manera para lograr una hipersuperficie poco regular, se necesitan pocas iteraciones y partículas, al contrario si se quiere lograr una hipersuperficie más regular, es necesaria una búsqueda más profunda, que implique un mayor número de partículas e iteraciones [53].

En PSO, el término de Metaoptimización se emplea al uso de un optimizador superpuesto, para diferentes escenas de optimización [54].

Los parámetros ω , φ_p y φ_g son definidos por un especialista y regulan el comportamiento y la eficacia del método PSO.

El peso de la inercia (ω) es un factor importante para la convergencia PSO. Se utiliza para controlar el impacto de la historia anterior de las velocidades y de la velocidad actual. Un factor de peso inercia grande facilita la exploración global (es decir, la búsqueda de la nueva área), mientras que factor de peso pequeño facilita la exploración local. Por lo tanto, es mejor elegir un factor de gran peso para las iteraciones iniciales y reducir gradualmente el factor de peso en sucesivas iteraciones. Esto puede hacerse mediante la ecuación 2.19 [30].

$$\omega = (\omega_{max} - \omega_{min}) \times Iter/Ietr_{max}$$
(2.19)

Dónde ω_{max} y ω_{min} son inicial y final peso respectivamente, *Iter* es el número de iteración actual y *Iter_{max}* es el número máximo de iteración.

La aceleración constante ω_p llamada parámetro cognitiva guía cada partícula hacia mejor posición local; mientras que la constante ω_g llamada parámetro social, guía la partícula hacia mejor posición global. [51].

Variantes.

El algoritmo básico de PSO puede llegar a tener numerosas variantes, por ejemplo el modo de inicializar las partículas y sus velocidades, de regular la velocidad, de actualizar la mejor posición de la partícula (**p**), así como su posición global (**g**), una vez actualizado el enjambre. Con el fin de mejorar el rendimiento del proceso surgen nuevas variantes de optimización. En la investigación llevada a cabo pueden distinguirse ciertas tendencias; una es lograr un método de optimización híbrido que combine PSO con otros mecanismos optimizadores [55].

Sesgos.

Mientras que el algoritmo encuentra realiza la búsqueda, dimensión por dimensión, es más fácil hallar el punto de solución si este se encuentra en el espacio de búsqueda, en una diagonal o, aún más fácil, si está justo en el centro [56].

Para evitar estos sesgos se trata de realizar comparaciones más ponderadas, es por ejemplo tomar como referencia problemas no sesgados, y luego rotarlos o desplazarlos. Otra opción es modificar el propio algoritmo para hacerlo menos sensible al sistema de coordenadas [24].

En el contexto de la PSO, el término "convergencia" suele con dos significados (a veces considerados erróneamente como sinónimos) [57]:

- Convergencia puede referirse a la mejor posición global (g) conocida, que se aproxima (converge) al óptimo del problema, independientemente de cómo se comporte el enjambre.
- Convergencia puede referirse a una concentración del enjambre, donde todas las partículas confluyen hacia un punto del espacio de búsqueda, que puede o no ser el óptimo.

2.2.5 Coeficientes y distancias para la validación de los algoritmos.

Para la validación de estos algoritmos usualmente en la literatura se encuentra el uso de coeficientes como la sensibilidad, precisión, exactitud y distancias tales como la de Jaccard y Dice. A partir de la matriz de confusión existente entre las imágenes segmentadas automáticamente por los algoritmos comparados y el estándar dorado confeccionado por los observadores, especializados en el tema. De la matriz de confusión se pueden extraer las siguientes relaciones:

- a = objetos detectados como objetos (Verdaderos positivos)
- b = fondo detectado como objetos (Falsos positivos)
- c = objetos detectados como fondo (Falsos negativos)
- d = fondo detectados como fondo (Verdaderos negativos)

Una vez definida la matriz de confusión se calculan los coeficientes de Sensibilidad (S_e)

ecuación (2.20), cantidad de objetos detectados correctamente; Precisión (P_p) ecuación

(2.21), probabilidad de tener los objetos positivos encontrado correctamente; Exactitud (E_x) ecuación (2.22), probabilidad de detectar correctamente objetos como objetos y fondo como fondo; Jaccard (D_i) ecuación (2.23) muestra un valor mayor cuando los objetos han

sido bien detectados y no se han confundido con el fondo; Dice (D_D) ecuación (2.24), el modo del cálculo de esta es similar al de Jaccard con la diferencia que este hace más énfasis en los objetos correctamente seleccionados [58].

Las medidas escogidas para este estudio han sido seleccionadas a partir de las investigaciones estadísticas que han realizado varios autores, además se tuvieron en cuenta las características de las imágenes que componen la muestra objeto de estudio, que presentan un número de píxeles en el fondo mucho mayor que el número de los objetos, lo que hay que tener en cuenta en dependencia del tipo de estudio que se desea realizar, ya que puede ser interpretado de una manera errónea. Los coeficientes escogidos para la evaluación se presentan seguidamente.

$$E_x = \frac{a+d}{a+b+c+d} \tag{2.20}$$

$$S_e = \frac{a}{a+c} = 1 - \frac{c}{a+c} \tag{2.21}$$

$$P_p = \frac{a}{a+b} = 1 - \frac{b}{a+b}$$
(2.22)

$$D_j = \frac{a}{a+b+c} \tag{2.23}$$

$$D_D = \frac{2a}{2a+b+c} \tag{2.24}$$

2.3 Análisis de balance de las bases de datos.

En el empleo de los coeficientes se decidió no utilizar los coeficientes de sensibilidad, precisión y exactitud. Esta decisión del autor se debe a que los mismos funcionan

correctamente cuando en las imágenes las clases se encuentran balanceadas. Al no cumplirse esta regla, el fondo tiene mucho mayor cantidad de píxeles que los objetos, como se muestra en la tabla 2.1, los resultados de estas medidas no serán fiables, ver resto de la tabla anexo III [59].

Tabla 2.3. Análisis de	l balance en l	as bases de datos.
------------------------	----------------	--------------------

Imágenes	Cantidad de píxeles objeto	Cantidad de píxeles fondo	(Fondo/Objeto)
14	2685	259459	96,63
18	1328	248856	187,39

Existen métodos para que las muestras queden balanceadas pero en esta investigación no se ha realizado por lo complejo del proceso. Esto se debe a que las dos clases (objeto y fondo) no se encuentran debidamente separados sino mezclados entre sí.

De acuerdo a la búsqueda bibliográfica para la validación de los algoritmos, se decidió utilizar la distancia de Dice [35, 36, 60-63] y Jaccard, ya que estas son unas de las medidas más empleadas para este tipo de trabajo. Estas dos medidas son idénticas con la diferencia que la primera realza la cantidad de objetos segmentados correctamente por lo que detecta mejor los errores cometidos. Además de estas también fueron consultados los retos (*Challenges* en inglés) lanzados este año que abordaban el tema de la segmentación en imágenes de células. En esta búsqueda se encontró que aproximadamente un 63% exigen utilizar la distancia de Dice para la evaluación de la segmentación.

2.4 Conclusiones del capítulo.

Este capítulo se inicia con la descripción de las bases de datos utilizadas en el experimento. Y se concluye que los algoritmos a emplear son el iterativo que emplea el método umbral, a través de distancias (Mahalanobis), K-*means* y el de *Particle Swarm Optimization*. Para evaluar los algoritmos se emplean las distancias de Jaccard y Dice de acuerdo a la literatura estudiada.

CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Una vez habiéndose abordado en el capítulo anterior, los temas concernientes a los materiales y métodos utilizados para este trabajo, y también haciendo referencia a los algoritmos de segmentación y medidas empleadas para la evaluación en los espacios de colores, en este capítulo se analizarán los resultados de estos algoritmos. Para este análisis se tendrá en cuenta la comparación con el estándar dorado, y se realizará una discusión de los mismos a partir de una inspección visual, coeficientes estadísticos y distancias como es el caso de distancia de Dice y distancia de Jaccard.

3.1 Resultados de la comparación de los algoritmos en RGB, HSV, L*a*b*.

Esta sección se centra en los resultados obtenidos de las segmentaciones de los algoritmos seleccionados en los espacios de color bajo estudio, llevándose a cabo una comparación cuantitativa de los algoritmos escogidos. Los resultados presentados fueron obtenidos del análisis del resultado global de los coeficientes respecto a los algoritmos en cada uno de los espacios.

En esta investigación se realizó la evaluación del algoritmo iterativo para la segmentación de las imágenes de citología bronquial y serosa. Esta se realiza en los tres espacios de color seleccionados, obteniéndose los gráficos que se observan en las Figuras 3.1 y 3.2.



Figura 3.1. Resultado de la distancia de Jaccard en el algoritmo iterativo.



Figura 3.2. Resultados de la distancia de Dice del algoritmo Iterativo.

De acuerdo a lo mostrado en las Figuras 3.1 y 3.2 se puede observar como en las dos distancias utilizadas para la evaluación, el algoritmo iterativo tiene un desempeño similar en los espacios de color L*a*b* y RGB, aunque en la tabla 3.1 se observa que el espacio L*a*b* presenta un resultado ligeramente superior. Los resultados que se obtuvieron fueron condicionados por el histograma de las imágenes analizadas. Si el histograma de la imagen es bimodal, ejemplo imágenes en RGB (5, 6, 10-14, 16, 17), la segmentación se realiza con gran calidad. En el caso del espacio HSV, como se muestra en la Figura 3.3, las imágenes presentan histogramas multimodales siendo el motivo para que la segmentación no se realice con la calidad esperada.

Espacios Distancias	RGB	HSV	L*a*b*
Jaccard	51,06%	10,18%	54,68%
Dice	66,78%	17,63%	69,29%

Tabla 3.1. Resultados globales de la distancia de Jaccard y Dice para el algoritmo Iterativo. Véase anexo IV.



Figura 3.3. (a) Imagen original en el espacio HSV. (b) Imagen en escala de grises. (c) Histograma.

Al analizar los histogramas de las imágenes 2 y 3 mostradas en la Figura 3.4, se observa como el histograma es bimodal presentando resultados por encima del 80% en el espacio $L^*a^*b^*$. Además a estos resultados satisfactorios se unen que en este espacio la cromaticidad (a^*b^*) y la luminancia (L^*) no están mezcladas entre sí. Por lo que la intensidad no es un problema ya que existe un marcado contraste entre el fondo y el objeto lo que permite la fácil elección de umbral óptimo para la segmentación como se muestra en la Figura 3.4. En el caso de las imágenes 6 y 10 en RGB sucede algo similar, aunque las componentes R, G y B poseen un fuerte factor de intensidad y están altamente correlacionadas estas poseen un buen contraste como se muestra en la Figura 3.5.



Figura 3.4. (a) Imagen en el espacio L*a*b*. (b) Imagen escala de grises. (c) Histograma de la imagen. (d) Imagen original. (e) Imagen en escala de grises. (f) Histograma de la imagen.



Figura 3.5. (a) Imagen en el espacio RGB. (b) Imagen en escala de grises. (c) Histograma de la imagen. (d) Imagen original. (e) Imagen en escala de grises. (c) Histograma de la imagen.

En las Figuras 3.6 y 3.7, se muestra el resultado del algoritmo de Mahalanobis en los tres espacios de colores analizados en la investigación, al cual se le aplicaron las mismas evaluaciones que al anterior algoritmo.



Figura. 3.6. Resultados de la distancia de Jaccard del algoritmo Mahalanobis.





Por su parte en las Figuras 3.6 y 3.7 se pueden percibir los resultados de la evaluación del algoritmo de acuerdo las distancias de Jaccard y Dice. La distancia de Mahalanobis permite calcular distancias entre colores equilibrados por la importancia del Matiz (color principal) y la varianza en cada componente de los espacios (R, G y B; H, S y V; L*, a* y b*). Incluyendo la inversa de la Matriz de Covarianza de un conjunto de píxeles representativos

y el cálculo de la distancia de Mahalanobis, se puede lograr este "equilibrio". En imágenes como la 1 y 5 en el espacio RGB existe una homogeneidad de la iluminación y buen contraste entre el fondo y los objetos, lo que facilita el cálculo de la distancia, de ahí que en estas imágenes los valores superan el 80%, a su vez en las imágenes 3, 6, 8, 9 y 10 del espacio L*a*b* también presentan valores por encima del 80%.

A pesar de estas similitudes en cuanto a los resultados en la tabla 3.2 se ve como en el espacio $L^*a^*b^*$ se logran resultados superiores.

 Tabla 3.2. Resultados globales de las distancia de Jaccard y Dice en la Distancia de Mahalanobis. Véase anexo V las tablas completas.

Espacios	RGB	HSV	L*a*b*
Distancias			
Jaccard	59%	49,11%	62,18%
Dice	71,77%	64,79%	75,50%

En la Figura 3.8, se muestran algunas de las imágenes donde este método obtuvo los mejores resultados, de acuerdo a las características explicadas anteriormente.



Figura 3.8. (a) y (d) Imagen en el espacio L*a*b*. (b) y (e) Imagen segmentada. (c) y (f) Máscara binaria.

Otro de los algoritmos que se evalúan en este trabajo es el que utiliza el agrupamiento para segmentar. Uno de los clásicos seleccionados fue el K-medias y los resultados de la segmentación de las imágenes en los tres espacios se pueden observar en las Figuras 3.9 y 3.10.



K-means 100 80 60 40 20 0 imagen10 imagen16 imagent2 imagen13 imagenta inagents imagenti imagen3 imagens imageno inagens imagen11 imagen18 inagenz imagena imageni imagen? Imagen L*a*b* RGB HSV

Figura. 3.9. Resultados de la distancia de Jaccard del algoritmo K-means.

Figura. 3.10. Resultados de la distancia de Dice del algoritmo K-means.

En cuanto a las distancias de Jaccard y Dice como se muestran en las Figuras 3.9 y 3.10, en el espacio $L^*a^*b^*$ es donde se exhiben los mejores resultados.

En las imágenes 2 y 3 de la Figura 3.11 los resultados no son los deseados, debido a que dicho método es totalmente dependiente de la configuración inicial de sus parámetros. Se

requiere una especificación del número de grupos a generar, además de que los centroides son generados de forma aleatoria como un punto en el espacio, lo cual implica que tienen que ser recalculados tanto los centroides como las distancias de los clústeres, este método para medir las distancias utiliza la distancia euclidiana.



Figura 3.11. (a) y (d) Imagen original en el espacio L*a*b*. (b) y (e) Imagen segmentada. (c) y (f) Máscara binaria.

Estas imágenes en el espacio RGB, Figura 3.12, presentan una buena segmentación. Esto ocurre ya que existe una gran distancia entre los elementos de color azul y los que no son de interés de color rojo. Entonces cuando el algoritmo realiza el agrupamiento la distancia entre estas es notable por lo que no son tomados como objetos y cuando se compara con el estándar dorado, véase Figura 3.13 se obtiene un mejor resultado. En el caso de estas imágenes en al ser convertidas al espacio L*a*b* todas las células toman un tono entre el verde claro y el verde oscuro. Esto conlleva a que dicho método pueda segmentar los objetos que no son de interés, ya que la diferencia de color es pequeña como se muestra en la Figura 3.11.



Figura 3.12. (a) y (d) Imagen en el espacio RGB. (b) y (e) Imagen segmentada. (c) y (f) Imagen binaria.

Para asegurar aún más los resultados obtenidos anteriormente se realizaron las medidas globales de los coeficientes de Jaccard y Dice llegándose a la conclusión que es en el espacio L*a*b donde este algoritmo mejor resultados presenta como muestra la tabla 3.3.



Figura 3.13. (a) Estándar dorados de la imagen 2. (b) Estándar dorado de la imagen 3.+

Tabla 3.3. Resultados globales de las distancia de Jaccard y Dice en el método de K-means. Véase anexo VI.

Espacios Distancias	RGB	HSV	L*a*b*
Jaccard	41,11%	10,81%	45,68%
Dice	57,22%	18,74%	60,97%

En las Figuras 3.14 y 3.15, se muestra el desempeño del algoritmo PSO para cada una de las medidas utilizadas.

Como se puede observar, en los resultados mostrados no existen grandes diferencias entre los espacios RGB y L*a*b*; aunque este primero exhibe mejores resultados, véase tabla 3.4. Para que este método logre una buena optimización del problema es necesario definir una serie de parámetros como ubicación de la partícula en el espacio de búsqueda, velocidad de la partícula, número de iteraciones, así como el peso de la inercia.



Figura. 3.14. Resultados de la distancia de Jaccard del algoritmo PSO.



Figura. 3.15. Resultados de la distancia de Dice del algoritmo PSO.

Espacios Distancias	RGB	HSV	L*a*b*
Jaccard	45,94%	10,91%	45,61%
Dice	61,22%	19,06%	59,74%

Tabla 3.4. Resultados globales de las distancia de Jaccard y Dice en el método de PSO. Véase anexo VII.

Dado que la ubicación de la partícula en el área de búsqueda es de forma aleatoria, una segmentación de buena calidad estará dada en gran medida por el número de objetos en la imagen, teniendo una mayor probabilidad cuando en la imagen hay un mayor número o el espacio ocupado por estos es considerable, como ocurre en las imágenes 1, 5, 8 y 9 como se muestra en la Figura 3.16 a continuación. Por estas características, imágenes como la 1, 8 y 9 tienen valores superiores al 80%.



Figura 3.16. Imágenes en la que el algoritmo de PSO alcanzó mejores resultados.

3.2 Comparación entre los mejores algoritmos.

Después de haber realizado la comparación de los resultados en los tres espacios de color, RGB, HSV y L*a*b*, por cada uno de los algoritmos se seleccionaron los que presentaron mejor desempeño. Después se determinó cuál de ellos era el más idóneo para segmentar imágenes de citología bronquial y serosa. Para esta evaluación también se emplearon las distancias de Jaccard y Dice. En las Figuras 3.17 y 3.18 se pueden observar las gráficas en barras de la distancia Jaccard y Dice que se obtuvieron de la segmentación de los algoritmos en los espacios que mejor desenvolvimiento presentaron.



Figura. 3.17. Distancia de Jaccard de los algoritmos de mejores resultados.



Figura 3.18. Distancia de Dice de los algoritmos de mejores resultados.

Como se muestra en la Figura 3.20 el algoritmo de Mahalanobis en el espacio L*a*b* es el de mejores resultados en esta investigación. En imágenes como la 1 y 2, aunque no presenta malos resultados no son los mejores.

En el caso de la imagen1 el algoritmo de PSO presenta ventajas ya que el citoplasma de las células tienen un color similar al del núcleo. Este ocupa gran parte de la imagen por lo que

existe una alta probabilidad que la partícula sea ubicada en la región de interés. Así, de esta forma el algoritmo cuenta con mejores resultados que el de Mahalanobis.

En cuanto a la imagen 2 como se muestra en la Figura 3.3c cuenta la imagen con un histograma bimodal muy bien definido por lo que el método Iterativo le resulta fácil definir un umbral óptimo para lograr una segmentación de muy buena calidad como la que se observa en la Figura 3.21.





ura 3.19. Resultados globales distancia de Jaccard.

ura 3.20. Resultados globales de los algoritmos de mejores resultados de acuerdo a la distancia de Dice.



Figura 3.21. (a)Imagen2 original. (b) Imagen segmentada. (c) Estándar dorado de la imagen.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

En este trabajo se realizó una evaluación de cuatro algoritmos de segmentación a partir de la información de color de las imágenes. Estos algoritmos fueron: Iterativo, distancia Mahalanobis, K-*means* y *Particle Swarm Optimization*. Estos fueron evaluados en los tres espacio de color (RGB, HSV, CIEL*a*b*) a partir de las distancias de similitud y disimilitud Jaccard y Dice. Durante el desarrollo de la investigación se arribó a las conclusiones siguientes:

- 1 Después de haber consultado la bibliografía sobre las imágenes digitales de microscopía celular en citología bronquial y serosa se concluye que el teñido realizado a las muestras por la técnica de papanicolau algunas veces afectan el contraste de la imagen pudiéndose dificultar así el buen desempeño de algunos algoritmos para una correcta segmentación.
- 2 Se deben realizar búsquedas de otras bases de datos de imágenes de citología bronquial y células serosas para así tener un mayor número de muestras con que evaluar los resultados.
- 3 Algunos algoritmos para una segmentación de calidad necesitan tener una selección de los parámetros adecuada sino sus resultados varían cada vez que se ejecuten, debido al proceso aleatorio de la selección de los mismos.
- 4 Se necesitan unas bases de datos balanceadas para que así se puedan evaluar los resultados con algunos coeficientes (precisión, sensibilidad y exactitud) que son

necesarios para hacer más fiables y seguros la evaluación de los resultados de estos algoritmos para que se utilicen como apoyo al diagnóstico médico.

Recomendaciones

Tomando como base el estudio realizado queda abierta la posibilidad de continuar evaluando otros algoritmos de segmentación hasta crear un documento más amplio que permita a especialistas del tema contar con un apoyo bibliográfico específico de consulta para nuevas investigaciones.

Como trabajo futuro se proponen las recomendaciones siguientes:

- 1 Realizar una búsqueda de unas bases de datos que sean balanceadas para que se puedan medir los coeficientes de precisión, sensibilidad y exactitud de los algoritmos.
- 2 Realizar un estudio de los métodos de selección de parámetros existentes para los algoritmos de agrupamiento (K-*means*) y de optimización por enjambre (PSO).
- 3 Evaluar otros algoritmos de segmentación que permitan ampliar el documento de consulta.
- 4 Realizar un estudio similar en cuanto al empleo de las métricas que se utilizan para evaluar estos algoritmos y ayudar en la toma de decisión de cuales son las medidas que se acercan a las condiciones que son realizado los experimentos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1. Martínez, S.V., *Citología cervical*. Rev Med Hondur, 2005. **73**: p. 131-136.
- 2. Michavila, I.A., et al., *Broncoscopia diagnóstica*.
- de Cabalier, I.E.D., Nuestra experiencia en el uso de la citología exfoliativa para el diagnóstico del cáncer cutáneo no melanoma. Arch. argent. dermatol, 2004. 54: p. 1-6.
- 4. Llena Puy, C., *La saliva en el mantenimiento de la salud oral y como ayuda en el diagnóstico de algunas patologías*. Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal (Internet), 2006. **11**(5): p. 449-455.
- 5. Sobotta, J., et al., *Atlas de anatomía humana: Cabeza, cuello, miembro superior. Vol. 1.* Vol. 1. 2006: Ed. Médica Panamericana.
- 6. Ablameyko, S., et al. From cell image segmentation to differential diagnosis of thyroid cancer. in Pattern Recognition, 2002. Proceedings. 16th International Conference on. 2002. IEEE.
- 7. Finn, G., *Histología*. 2001: Panamericana.
- 8. Molist, P., et al., *Atlas de histología vegetal y animal*. Técnicas Histológicas. Depto. de Biología Funcional y Ciencias de la Salud Facultad de Biología Universidad de Vigo, 2011.
- 9. Gonzalez, R.C., *Digital image processing*. 2009: Pearson Education India.
- 10. Gonzalez, R.W., *RE: Digital Image Processing*. Reading, Addison Wesley, 2002.
- 11. Smith, A.R. Color gamut transform pairs. in ACM Siggraph Computer Graphics. 1978. ACM.
- 12. Conesa-Muñoz, J., et al. *Método de detección visual de líneas de cultivo para el control en dirección de vehículos agrícolas.* in *Conferencia de la Asociación Española para la Inteligencia Artificial (CAEPIA).* 2011.
- 13. Valdés, L.C. and J.L. Ginori. Segmentación de Agregados en Imágenes de Microscopía Celular de Eritrocitos Empleando Técnicas de Procesamiento Morfológico de Imágenes. in V Latin American Congress on Biomedical Engineering CLAIB 2011 May 16-21, 2011, Habana, Cuba. 2013. Springer.

- 14. Ortiz Zamora, F.G., *Procesamiento morfológico de imágenes en color: aplicación a la reconstrucción geodésica.* 2002.
- 15. TOVAR, L.B., *DESARROLLO E IMPLEMENTACIÓN DE ALGORITMOS PARA EL SISTEMA DE PERCEPCIÓN Y LOCALIZACIÓN DE LOS ROBOTS BOGOBOTS*.
- 16. Tortajada, I., et al., *Análisis del proceso de clasificación cerámico*. Boletín de la sociedad Española de cerámica y vidrio, 2006. **45**(1): p. 22-27.
- 17. López-Conejo, L.S. and R.E. Sánchez-Yánez, *Segmentación de imágenes naturales usando el espacio de color CIELab*. Universidad de Guanajuato, FIMEE, 2012.
- 18. Nasr-Isfahani, S., A. Mirsafian, and A. Masoudi-Nejad. A new approach for touching cells segmentation. in BioMedical Engineering and Informatics, 2008. BMEI 2008. International Conference on. 2008. IEEE.
- 19. Ekstrom, M.P., *Digital image processing techniques*. Vol. 2. 2012: Academic Press.
- 20. Pratt, W.K., *Image enhancement*. Digital Image Processing: PIKS Scientific Inside, Fourth Edition, 2001: p. 247-305.
- 21. Wilke, D.N., S. Kok, and A.A. Groenwold, *Comparison of linear and classical velocity update rules in particle swarm optimization: notes on diversity.* International Journal for Numerical Methods in Engineering, 2007. **70**(8): p. 962-984.
- 22. Wu, J., H. Yan, and A.N. Chalmers, *Color image segmentation using fuzzy clustering and supervised learning*. Journal of electronic imaging, 1994. **3**(4): p. 397-403.
- 23. Saarinen, K. Color image segmentation by a watershed algorithm and region adjacency graph processing. in Image processing, 1994. Proceedings. ICIP-94., IEEE international conference. 1994. IEEE.
- 24. Celenk, M. and M.U. de Haag. *Optimal thresholding for color images*. in *Photonics West'98 Electronic Imaging*. 1998. International Society for Optics and Photonics.
- 25. Sankaran, P. and V.K. Asari. Adaptive thresholding based cell segmentation for cell-destruction activity verification. in Applied Imagery and Pattern Recognition Workshop, 2006. AIPR 2006. 35th IEEE. 2006. IEEE.
- 26. Gonzalez, R.C. and E. Richard, *Woods, digital image processing.* ed: Prentice Hall Press, ISBN 0-201-18075-8, 2002.
- 27. Li, Z.-X. and S.-W. Kim, A Multi-thresholding Approach Improved with Otsu's Method. The Institute of Electronics Engineers of Korea (IEEK)(Korean), 2006: p. 2-37.
- 28. Patil, R. and K. Jondhale. *Edge based technique to estimate number of clusters in kmeans color image segmentation.* in *Computer Science and Information Technology (ICCSIT), 2010 3rd IEEE International Conference on.* 2010. IEEE.
- 29. Barceló, M., La intel·ligència artificial. Vol. 4. 2005: Editorial UOC.

- 30. Settles, M., *An Introduction to Particle Swarm Optimization*. Department of Computer Science, University of Idaho, 2005.
- 31. Merelo, J., *Técnicas heurísticas de resolución de problemas: computación evolutiva y redes neuronales.* 2007.
- 32. Benítez Iglesias, R., et al., Intel·ligència artificial avançada. 2012.
- 33. Selvi, V. and D.R. Umarani, *Comparative analysis of ant colony and particle swarm optimization techniques*. International Journal of Computer Applications (0975–8887), 2010. **5**(4).
- 34. López, L.U., et al. Integrando una base de datos léxica y una colección de entrenamiento para la desambiguación del sentido de las palabras. 1998. SEPLN.
- 35. Cuadras, C.M., Nuevos métodos de análisis multivariante. 2007: CMC Editions.
- 36. Van Der Heijden, G., J. Van De Vooren, and C. Van De Wiel, *Measuring cell wall dimensions using the distance transform.* Annals of Botany, 1995. **75**(5): p. 545-552.
- 37. Ortner, M., et al. *Ground truth and CT image model simulation for pathophysiological human airway system.* in *SPIE Medical Imaging.* 2010. International Society for Optics and Photonics.
- 38. Deer, P. and P.W. Eklund, *On parameter values for a mahalanobis distance fuzzy classifier*. 2000.
- 39. Farber, O. and R. Kadmon, Assessment of alternative approaches for bioclimatic modeling with special emphasis on the Mahalanobis distance. Ecological Modelling, 2003. **160**(1): p. 115-130.
- 40. De Leon, A. and K. Carriere, *A generalized Mahalanobis distance for mixed data*. Journal of Multivariate Analysis, 2005. **92**(1): p. 174-185.
- 41. Rudra, A., *Prasanta Chandra Mahalanobis: A Biography*. 1996: Oxford University Press, USA.
- 42. Taguchi, G., S. Chowdhury, and Y. Wu, *The Mahalanobi-Taguchi System [M]*. *American Supplier Institute*. 2001, Inc.
- 43. Xiang, S., F. Nie, and C. Zhang, *Learning a Mahalanobis distance metric for data clustering and classification*. Pattern Recognition, 2008. **41**(12): p. 3600-3612.
- 44. Hartigan, J.A. and M.A. Wong, *Algorithm AS 136: A k-means clustering algorithm*. Applied statistics, 1979: p. 100-108.
- 45. Palacios, G. and J.R. Beltran. *Cell nuclei segmentation combining multiresolution analysis, clustering methods and colour spaces.* in *Machine Vision and Image Processing Conference, 2007. IMVIP 2007. International.* 2007. IEEE.
- 46. Ray, S. and R.H. Turi. Determination of number of clusters in k-means clustering and application in colour image segmentation. in Proceedings of the 4th international conference on advances in pattern recognition and digital techniques. 1999. India.

- 47. Aloise, D., et al., *NP-hardness of Euclidean sum-of-squares clustering*. Machine learning, 2009. **75**(2): p. 245-248.
- 48. Arthur, D., B. Manthey, and H. Roglin. *k-Means has polynomial smoothed complexity.* in *Foundations of Computer Science, 2009. FOCS'09. 50th Annual IEEE Symposium on.* 2009. IEEE.
- 49. Kennedy, J., et al., *Swarm intelligence*. 2001: Morgan Kaufmann.
- 50. Kennedy, J. The particle swarm: social adaptation of knowledge. in Evolutionary Computation, 1997., IEEE International Conference on. 1997. IEEE.
- 51. Bai, Q., *Analysis of particle swarm optimization algorithm*. Computer and information science, 2010. **3**(1): p. p180.
- 52. Bratton, D. and T. Blackwell, *A simplified recombinant PSO*. Journal of Artificial Evolution and Applications, 2008. **2008**: p. 14.
- 53. Evers, G.I., An automatic regrouping mechanism to deal with stagnation in particle *swarm optimization*. 2009, Citeseer.
- 54. Rocca, P., et al., *Evolutionary optimization as applied to inverse scattering problems*. Inverse Problems, 2009. **25**(12): p. 123003.
- 55. Zhan, Z.-H., et al., *Orthogonal learning particle swarm optimization*. Evolutionary Computation, IEEE Transactions on, 2011. **15**(6): p. 832-847.
- 56. Monson, C.K. and K.D. Seppi. *Exposing origin-seeking bias in PSO*. in *Proceedings of the 7th annual conference on Genetic and evolutionary computation*. 2005. ACM.
- 57. Clerc, M. and J. Kennedy, *The particle swarm-explosion, stability, and convergence in a multidimensional complex space.* Evolutionary Computation, IEEE Transactions on, 2002. **6**(1): p. 58-73.
- 58. Sato Yamada, J.J., *Microscopio automatizado: conteo de bacilos de tuberculosis.* 2013.
- 59. Taboada-Crispi, A., et al., *Anomaly Detection in Medical Image Analysis*. Handbook of Research on Advanced Techniques in Diagnostic Imaging and Biomedical Applications, 2009.
- 60. García, V., J.S. Sánchez, and R.A. Mollineda, *On the effectiveness of preprocessing methods when dealing with different levels of class imbalance*. Knowledge-Based Systems, 2012. **25**(1): p. 13-21.
- 61. Yu, J., et al., *Distance learning for similarity estimation*. Pattern Analysis and Machine Intelligence, IEEE Transactions on, 2008. **30**(3): p. 451-462.
- 62. Bamford, P. Empirical comparison of cell segmentation algorithms using an annotated dataset. in Image Processing, 2003. ICIP 2003. Proceedings. 2003 International Conference on. 2003. IEEE.
- 63. Warrens, M.J., *k-Adic similarity coefficients for binary (presence/absence) data.* Journal of Classification, 2009. **26**(2): p. 227-245.

ANEXOS

Anexo I Imágenes de citología serosa y su estándar dorado.

No	Imágenes	Estándar Dorado
1		
2		
3		
4		

No.	Imágenes	Estándar Dorado
5		
6		
7		
8		
9		

Anexo I Imágenes de citología serosa y su estándar dorado (Continuación)



Anexo II Imágenes de citología bronquial y su estándar dorado

No.	Imágenes	Estándar Dorado
11		
12		
13		
14		

- 61


Anexo II Imágenes de citología bronquial y su estándar dorado (Continuación)

No.	Imágenes	Estándar Dorado
17		
18		

Imágenes	Cantidad de pixeles objeto	Cantidad de pixeles de fondo	Proporción (Fondo/Objeto)
1	60442	201702	3,3
2	33004	229140	6,9
3	16998	245146	14,42
4	38121	224023	5,9
5	38752	223392	5,8
6	7629	254515	33.36
7	23534	238610	10,13
8	24502	237642	9,7
9	31465	230679	7,3
10	13463	248681	18,5
11	16333	245811	15,05
12	6978	255166	36,56
13	19323	242821	12,5
14	2685	259459	96,63
15	7079	255065	36,03
16	8521	253623	29,76
17	7228	254916	35,27

Anexo III Análisis del balance en las bases de datos.

18	1328	248856	187,39

Anexo IV Resultados de las distancia de Jaccard y Dice para el algoritmo Iterativo.

Jaccard

imágenes	RGB	HSV	L*a*b*
imagen1	53	27,85	61,14
imagen2	59	14,31	77,63
imagen3	61	6,87	76,96
imagen4	39	17,48	57,75
imagen5	61	20	58,34
imagen6	84	3,19	60,9
imagen7	60	9,19	65,05
imagen8	33	17,02	67,49
imagen9	55	21,73	80,3
imagen10	78	6,41	70,5
imagen11	49	8,05	40,07
imagen12	47	3,48	44,18
imagen13	45	9,1	38,21
imagen14	29	1,56	26,16

- 64

imagen15	19	4,16	34,94
imagen16	54	3,99	42,45
imagen17	48	3,4	37,11
imagen18	45	5,47	45,01
globales	51,0555556	10,1811111	54,6772222

Dice

imágenes	RGB	HSV	L*a*b*
imagen1	69	43,57	75,89
imagen2	74	25,03	87,41
imagen3	76	12,85	86,98
imagen4	57	29,76	73,22
imagen5	76	33,33	73,69
imagen6	91	6,19	75,7
imagen7	75	16,83	78,82
imagen8	49	29,09	80,59
imagen9	71	35,71	89,08
imagen10	87	12,05	82,7
imagen11	66	14,9	57,22
imagen12	64	6,72	61,28

_____ 65

imagen13	63	16,68	55,29
imagen14	45	3,06	41,47
imagen15	32	7,98	51,79
imagen16	80	6,67	59,6
imagen17	65	6,59	54,13
imagen18	62	10,38	62,36
globales	66,7777778	17,6327778	69,29

Anexo V Resultados de las distancia de Jaccard y Dice en el algoritmo de la Distancia de Mahalanobis.

Jaccard

imágenes	RGB	HSV	L*a*b*
imagen1	74	58,12	65,93
imagen2	65	64,09	64,54
imagen3	73	67,02	77,51
imagen4	65	70,95	72,18
imagen5	69	43,43	61,85
imagen6	81	59	84,14
imagen7	68	66,19	65,77

imagen8	77	58,97	88,13
imagen9	89	54,99	86,57
imagen10	69	51,87	79,03
imagen11	41	36,63	57,42
imagen12	36	35,77	43,52
imagen13	39	33,41	49,58
imagen14	35	32,2	42,15
imagen15	42	32,19	44,83
imagen16	46	38,86	41,67
imagen17	60	36,65	51,05
imagen18	33	43,71	43,44
globales	59	49,1138889	62,1838889

Dice

imágenes	RGB	HSV	L*a*b*
imagen1	85	72,75	79,47
imagen2	78	78,12	78,45
imagen3	85	80,21	87,3
imagen4	78	83,01	83,84
imagen5	82	60,56	76,43

imagen6	89	74,22	91,39
imagen7	81	79,65	79,35
imagen8	87	74,19	93,69
imagen9	80	70,96	92,8
imagen10	82	68,31	88,29
imagen11	58	53,62	72,95
imagen12	53	52,69	60,64
imagen13	56	50,09	66,29
imagen14	52	48,72	59,3
imagen15	59	48,7	61,9
imagen16	63	55,97	58,83
imagen17	75	53,65	67,59
imagen18	49	60,83	60,57
globales	71,77777778	64,79166667	75,50444444

Anexo VI Resultados de las distancia de Jaccard y Dice en el método de K-means.

Jaccard

imágenes	RGB	HSV	L*a*b*
imagen1	32	27,83	64,75
imagen2	62	14,57	30,49

------ 68

imagen3	56	6,88	24,08
imagen4	52	19,46	63,65
imagen5	50	20,97	60,94
imagen6	32	8,85	54,11
imagen7	42	9,36	51,24
imagen8	55	17,09	62,78
imagen9	58	21,88	78,54
imagen10	47	6,37	52,09
imagen11	33	8,21	33,83
imagen12	36	3,62	42,66
imagen13	31	9,28	38,68
imagen14	20	1,58	19,74
imagen15	31	4,24	31,37
imagen16	34	3,99	39,44
imagen17	29	3,55	31,88
imagen18	40	6,84	42,02
globales	41,1111111	10,8094444	45,6827778

Dice

imágenes	RGB	HSV	L*a*b*
----------	-----	-----	--------

- 69

imagen1	49	43,54	78,6
imagen2	76	25,44	46,73
imagen3	72	12,87	38,81
imagen4	68	32,58	77,79
imagen5	66	34,67	75,73
imagen6	49	16,26	70,42
imagen7	59	17,11	67,76
imagen8	71	29,2	77,13
imagen9	73	35,9	87,98
imagen10	64	11,98	68,5
imagen11	49	15,17	50,56
imagen12	53	6,99	59,81
imagen13	47	16,98	55,78
imagen14	33	3,12	32,97
imagen15	47	8,13	47,76
imagen16	51	7,68	56,57
imagen17	46	6,86	48,35
imagen18	57	12,81	56,17
globales	57,2222222	18,7383333	60,9677778

- 70

Anexo	VII	Resultados	de la	s distancia	de	Jaccard y	Dice en	el método	de PSO.
-------	-----	------------	-------	-------------	----	-----------	---------	-----------	---------

Jaccard

imágenes	RGB	HSV	L*a*b*
imagen1	70	24,25	66,87
imagen2	28	14,53	32,87
imagen3	19	6,36	21,74
imagen4	52	17,17	61,4
imagen5	61	21,44	52,57
imagen6	59	8,35	67,61
imagen7	51	9,13	59,24
imagen8	66	16,31	81,1
imagen9	76	21,84	77,86
imagen10	65	14,37	63,52
imagen11	37	6,3	33,94
imagen12	38	3,65	26,11
imagen13	39	8,71	39,05
imagen14	21	1,98	31,08
imagen15	38	4,16	41,7
imagen16	39	6,01	8,93

imagen17	29	2,87	15,91
imagen18	39	8,88	39,56
globales	45,9444444	10,9061111	45,6144444

Dice

imágenes	RGB	HSV	L*a*b*
imagen1	82	39,94	80,15
imagen2	44	25,38	49,48
imagen3	32	11,95	35,72
imagen4	69	29,31	76,08
imagen5	75	35,32	68,92
imagen6	74	15,41	80,67
imagen7	68	16,74	74,41
imagen8	80	28,05	89,56
imagen9	86	35,85	87,55
imagen10	79	25,13	77,69
imagen11	54	11,86	50,67
imagen12	56	7,04	41,41
imagen13	56	16,02	56,16
imagen14	34	3,89	47,43

- 72

imagen15	55	7,89	58,86
imagen16	56	11,33	16,4
imagen17	46	5,58	27,45
imagen18	56	16,31	56,69
globales	61,2222222	19,0555556	59,7388889