

Análisis Automático de la Movilidad en Células usando Técnicas Digitales

David Augusto Rojas Vigo, Guillermo Tejada Muñoz, Luis Milla Lostanau

Facultad de Ingeniería Electrónica y Eléctrica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima Perú

RESUMEN: Se describen las técnicas actuales para caracterizar la movilidad en células basadas en imágenes digitales, las cuales deben ser adquiridas a través de un sistema captura de video acoplado a un microscopio y luego analizadas a través de un computador.

I. INTRODUCCIÓN

El estudio del movimiento de las células y su comportamiento es de fundamental importancia en muchas aplicaciones biológicas [1]. Para analizar el movimiento de las células por técnicas digitales usualmente se registran secuencias de tramas por medio de un microscopio equipado con un sistema de adquisición de video. Las localizaciones de cada una de las células debe ser rastreada durante secuencias completas y se deben calcular las características cuantitativas y cualitativas, tales como velocidad promedio, máximo desplazamiento, entre otras.

Muchos autores han propuesto rastrear por métodos manuales o asistidos por computador, sin embargo esta tarea se vuelve rápidamente tediosa si se rastrea un gran número de muestras durante largos periodos para obtener resultados estadísticamente robustos. Debido a esto, su automatización se ha hecho cada vez más popular. Desafortunadamente, debido a problemas en la adquisición causados por las características particulares del problema biológico a afrontar, se generan imágenes de pobre calidad para su procesamiento digital (por ejemplo en imágenes con contraste de fase), haciendo más difícil la construcción de algoritmos eficientes y sencillos para su procesamiento digital.

Podemos dividir el problema del análisis del movimiento de las células en: (a) Determinar las posiciones instantáneas de cada una de las células en cada trama, también llamado seguimiento o rastreo, y

(b) Describir y caracterizar matemáticamente cada trayectoria.

En [2] se presenta una metodología para caracterizar y analizar las trayectorias de las células, considerando tres grupos de parámetros biológicamente relevantes que describan el comportamiento de cada célula individual, interacciones entre pares de células y la interacción de cada célula con su entorno. Definiéndose analíticamente medidas globales y locales, tales como velocidades y orientaciones promedio, desplazamiento efectivo, máxima dispersión y elongación de la trayectoria, similitud y atracción instantánea, entre otras.

II. TÉCNICAS PARA RASTREAR CÉLULAS

Existen dos principales aproximaciones descritas en la literatura para rastrear células usando técnicas digitales, las cuales se describen a continuación.

A. Rastreo por Segmentación

La segmentación consiste en detectar los objetos en una trama en base a sus propiedades específicas, tales como: borde, textura, color, entre otras. Luego se establece la localización espacial de cada objeto en las tramas para seguir su desplazamiento durante toda la secuencia. Esta aproximación es eficiente cuando los bordes de los objetos son nítidos y es útil también para secuencias temporales así como espaciales. Como la segmentación en cada trama puede ser independiente de las otras, es posible tratar objetos que presenten una topología cambiante durante la secuencia, pero tratar con objetos contiguos y traslapados puede llegar a ser muy difícil.

En [3] se sugiere un método sencillo segmentar imágenes de células basado en operadores de morfológica matemática y filtros Laplacianos. En [4] se propone un algoritmo de segmentación iterativo que

explota la información local para la segmentación automática de células, basado en dos propiedades estadísticas de los objetos en las imágenes de células: la similitud espacial local y posterior. En [5] se describe un sistema para el análisis automático de la migración de células *in vitro*, donde fueron investigadas diferentes técnicas de análisis para la segmentación de las células en las imágenes, tales como segmentación watershed y detección de fronteras usando programación dinámica. En [6] se propone un método basado en el procesamiento numérico del contraste óptico de las imágenes de células espermáticas, el cual ilustra la dinámica del movimiento de las células espermáticas y un análisis apropiado de los niveles de gris de las imágenes superpuestas. El algoritmo propuesto permite encontrar la cantidad relativa de movilidad de las células. En [7] se propone una estrategia de segmentación de dos etapas, que involucra la extracción de una región aproximada que contiene a la célula y parte del fondo cercano a la célula y la segmentación de la célula del fondo dentro de esta región. Esta reduce la influencia de intensidades del fondo periféricas y la textura en la extracción de una región de la célula.

B. Rastreo por Ajuste del Modelo

Consiste en optimizar la forma de un modelo parametrizado para ajustarlo al modelo de los objetos a analizar (en este caso, cada célula en una trama). Este método no encuentra todos los posibles objetos en cada trama, sino se enfoca en un único candidato (que corresponde al modelo predefinido) localizado alrededor de la posición inicial. Los Level Sets son una forma general para trabajar con objetos de topología cambiante, pero presentan algunas desventajas para el rastreo de células [8]. Los contornos activos modelan las fronteras entre el objeto, el fondo y el resto de los objetos en la imagen, permitiendo extraer los contornos de los objetos de interés (en nuestro caso las células). Esta técnica es mucho más robusta frente a la presencia del ruido y otros elementos espurios, éstos no requieren procesamiento posterior y son directamente interpretables, puesto que se basan en un modelo establecido a priori [9]. Si este modelo es el adecuado, la presencia de falsos positivos o negativos será muy pequeña.

Los contornos activos se pueden clasificar en snakes, patrones deformables y contornos dinámicos. Los snakes son mecanismos para dar cierto grado de conocimiento a priori a la interpretación de la imagen a bajo nivel. En lugar de esperar que las propiedades deseables de los contornos como son la continuidad y suavidad provengan de los datos de la imagen, estas propiedades son impuestas desde el principio. Se

impone un modelo elástico de curva continua, que posteriormente se ajustará a los datos de la imagen. Variando los parámetros de elasticidad de la curva se puede controlar la cantidad de información a priori que se asume. El modelado a priori se puede hacer más específico construyendo un conjunto de curvas que formarán el contorno global, con un conjunto de parámetros que controlen las variables cinéticas de la curva, como por ejemplo, los tamaños de las diferentes partes y los ángulos con las que se unen. Un modelo como este recibe el nombre de patrón deformable y es un mecanismo muy potente para buscar estructuras conocidas en una imagen.

Para localizar objetos en movimiento, las cosas se complican aún más dando lugar a lo que se denomina modelado dinámico, para el que es necesario añadir inercia, fuerzas de restauración y factor de amortiguamiento al snake estático. Cuando las curvas sean de seguimiento y utilicen información dinámica a priori reciben el nombre de contornos dinámicos.

En comparación con los métodos basados en la segmentación, no requiere establecerse localizaciones en cada trama. Sino, el resultado del proceso de ajuste del modelo en la trama $t-1$ es usado para inicializar el proceso en la trama t , esta inicialización automática enlaza las posiciones de los objetos en las tramas. Las posiciones de los objetos en la primera trama de la secuencia tiene también que ser identificadas para inicializar el proceso completo. En [10] se propone emplear una combinación de este método con procesos Mean-Shift.

III. CONCLUSIONES

La caracterización objetiva de las células espermáticas puede tener un impacto importante en el mercado nacional debido a que es una poderosa herramienta para la selección. Esta caracterización involucra la mínima influencia de personal para realizar las mediciones, evitándose la mayor cantidad de posibles errores.

Actualmente se viene investigando algunas técnicas alternativas que puedan ser útiles, tales como.

REFERENCIAS

- [1] C. Glasbey y G. Horgan, *Image Analysis for The Biological Sciences*, Wiley, New York, 1995.
- [2] L. da Fontoura y D. Schubert, *A Framework for Cell Movement Image Analysis*, 2nd International Conference on Image Analysis and Processing, 2003.

- [3] Y. Ma et al., *An Counting and Segmentation method of Blood Cell Image with Logical and morphological Feature of Cell*, 8th International Conference on Neural Information Processing, Shanghai, China, 2001.
- [4] E. Bak, K. Najarian y J. Brockway, *Efficient Segmentation Framework of Cell Images in Noise Environments*, 26th Annual International Conference of the Engineering in Medicine and Biology Society, San Francisco, 2004.
- [5] K. Althoff, *Segmentation and Tracking Algorithms for In Vitro Cell Migration Analysis*, PhD Thesis, University of Technology, Sweden 2005
- [6] A. Sozańska et al., Simple optical method of qualitative assessment of sperm motility: preliminary results, *Proceedings of SPIE*, vol. 5959, 2005.
- [7] K. Wu, D. Gauthier y M. Levine, Live Cell Image Segmentation, *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, pp. 1-12, 1995.
- [8] C. Zimmer et al., *Segmentation and tracking of migrating cells in video microscopy with parametric active contours: A tool for cell-based drug testing*, *IEEE transactions on medical imaging*, vol. 21, no. 10, pp. 1212–1221, Octubre 2002.
- [9] A. Blake y M. Isard *Active Contours* Springer Verlag 1998.
- [10] O. Debeir et al., Tracking of Migrating Cells Under Phase-Contrast Video Microscopy With Combined Mean-Shift Processes, *IEEE transactions on medical imaging*, vol. 24, N°. 6, junio 2005