

# PROCESADO DIGITAL DE IMAGENES PARA LA DETECCION Y SEGUIMIENTO DE CELULAS.

Elisa Sayrol y Antoni Gasull\*

## ABSTRACT

A new computerized methodology is described in which detection and tracking of human spermatozoa in semen are analyzed using a personal computer. Several approaches are studied in order to quantify the number of spermatozoa and to characterize the swimming motion.

## 1. INTRODUCCION

Hasta el momento, los métodos empleados para la determinación de parámetros derivados del análisis de semen humano se han realizado bien manualmente, o bien con el uso de máquinas especializadas de coste elevado, exclusivamente diseñadas para este fin. Se pretende realizar este análisis con máquinas de uso general, en concreto en un ordenador personal-AT (sin F.P.U.). Nuestro objetivo será obtener un método robusto de análisis cuyas principales características sean:

- Adaptabilidad a cualquier concentración de espermatozoides, a cualquier aumento de microscopio, y a las variaciones de luminosidad con que se adquieren las imágenes del microscopio.
- Coste computacional mínimo.

Los parámetros médicos a determinar son: la concentración de espermatozoides; el porcentaje de espermatozoides móviles e inmóviles; y otros parámetros obtenidos a partir de las trayectorias descritas por dichas células a lo largo del tiempo, sobre los cuales se basan los análisis de fertilidad [1]. En este trabajo se han elaborado los pasos previos a la determinación de dichos parámetros, que dividimos en las siguientes etapas:

- Detección de las células por segmentación de la imagen e identificación posterior de espermatozoides frente a otros objetos detectados.
- Seguimiento de cada uno de los espermatozoides dentro de una secuencia de imágenes

## 2. DETECCION DE CELULAS

Para detectar los espermatozoides nos basamos en la alta luminosidad que

\*Departament de Teoria del Senyal i Comunicacions  
Universitat Politècnica de Catalunya

Este trabajo ha sido subvencionado parcialmente por Prontic beca nº 108/88.

presentan sus cabezas respecto al fondo de la imagen. No se consideran las colas, de baja luminosidad y poco contrastadas con el fondo. Las imágenes son sometidas a un proceso de segmentación [9], para poder aislar agrupaciones conexas de píxels, que corresponderan a posibles cabezas. Se han desarrollado tres soluciones para el proceso de segmentación (2.1.):

- Por filtro adaptado (2.1.1.).
- Por detección del contorno de las cabezas (2.1.2.).
- Por Thresholding (2.1.3.).

Seguidamente se compararan los resultados obtenidos al aplicar las soluciones desarrolladas y se elegirá aquella que se adapte mejor a nuestros objetivos (2.2).

Finalmente se describirán las medidas efectuadas para la identificación de los espermatozoides respecto a otros objetos presentes en la muestra y detectados en el proceso de segmentación (2.3.)

## **2.1. Soluciones a la segmentación de imagen**

### **2.1.1. Filtro adaptado**

Se realiza para detectar la presencia o ausencia de las cabezas de espermatozoides, dentro de un fondo ruidoso. El criterio de optimización del filtro responde a una maximización de la relación señal-ruido [2]. Considerando ruido blanco y teniendo en cuenta que la señal detectada es real, la respuesta impulsional del filtro es la misma señal reflejada y desplazada. La señal resultante tendrá una componente de autocorrelación cuando la señal esté presente y siempre una componente de correlación cruzada entre el ruido y la señal. El filtro se diseña considerando la forma, el tamaño y los niveles de gris que presentan las cabezas en función del aumento [5].

### **2.1.2. Detección por contorno de las cabezas**

Se detectan límites entre regiones allí donde haya cambios abruptos de nivel de gris. Se desea detectar el límite entre las cabezas de los espermatozoides y el fondo. El proceso se descompone en dos pasos: la extracción de los elementos del contorno y la combinación de dichos elementos, eliminando los "falsos" elementos y fusionando los que forman parte del contorno [3]. Para extraer los elementos del contorno se ha utilizado un filtro no lineal de Sobel [4]. Para la conexión de los elementos se ha utilizado un algoritmo de seguimiento del máximo gradiente, adaptado al contorno de las cabezas [5].

### **2.1.3. Thresholding**

En este caso, la segmentación se realiza agrupando píxels de propiedades similares [6]. Para ello se calcula el histograma de niveles de gris de la imagen. En el histograma de este tipo de imágenes podemos diferenciar tres zonas:

- Zona de luminosidad baja: con algunos píxels del fondo.

- Zona de luminosidad media: con un aumento abrupto y creciente del número de píxels, seguido de una zona en donde los valores són máximos, finalmente una zona en donde el número de píxels vuelve a disminuir. Esta zona corresponde al modo principal del histograma, único para este tipo de imágenes y corresponde a los niveles de gris del fondo de la imagen.

- Zona de luminosidad alta: con un número bajo de píxels que se extienden hasta valores altos de luminosidad. Esta zona corresponde a las cabezas de los espermatozoides.

La segmentación se realiza buscando un umbral de nivel de gris que separe el modo, correspondiente al fondo, de la zona de altos niveles, correspondiente a las cabezas, siendo su emplazamiento en la zona de transición crítico. Se contemplan diversas posibilidades para obtener el umbral [5] y entre ellas se ha escogido la que ha dado los mejores resultados. Esta solución, se basa en un estudio a fondo de la derivada del histograma ya que contiene información acerca de la transición entre el modo y la parte superior del histograma. Para ello se eliminan los rizados de alta frecuencia del histograma y posteriormente los de su derivada. La derivada en la zona de transición se caracteriza por pasar de una zona de valores muy negativos, pertenecientes a la parte descendiente del modo del histograma, a una zona en donde la derivada es irregular y finalmente a una zona en donde la función es prácticamente nula. Entre estas dos últimas zonas se sitúa el umbral.

## 2.2. Comparación de resultados para la detección

La cuantificación de los errores que se producen en la segmentación és difícil de resolver [7]. La solución consiste en procesar un número elevado de imágenes de diferentes aspectos y con la ayuda de un médico especialista realizar un estudio estadístico y obtener los márgenes de error para cada método. Previamente a realizar este estudio en el laboratorio, se realiza un estudio con un subconjunto de imágenes representativas. Se valoran los siguientes factores para comparar las soluciones propuestas anteriormente:

- Comparación de la segmentación obtenida con una segmentación óptima. Esta última se realiza manualmente con la ayuda de un médico. Se analiza el porcentaje de píxels mal clasificados.

- Comparación con una detección óptima: se compara el cómputo de células obtenidas con el número real de la imagen analizada.

- Adaptabilidad del método: los métodos tienen que funcionar bajo distintas condiciones, es decir, según aumento, luminosidad, concentración de espermatozoides y otras irregularidades que aparezcan en la muestra.

- Coste computacional del método.

En cuanto a los dos primeros puntos se obtienen los mejores resultados para el filtro adaptado y para el detector de contornos y entre los métodos de Thresholding los mejores resultados se obtienen para el método de

derivación de histograma. La adaptabilidad del método ha resultado similar para todas las soluciones expuestas. En cuanto al coste computacional resulta prohibitivo usar el filtro adaptado o el detector de contornos para su aplicación en un ordenador personal y en cambio es razonable para los métodos de Thresholding.

### **2.3. Identificación de espermatozoides**

Al mismo tiempo que se detectan los espermatozoides, se detectan otras agrupaciones de píxels existentes en la imagen producidas por la presencia de irregularidades en la muestra. Aunque su número no es elevado es deseable suprimirlas. Las medidas efectuadas son [8]:

- El área de la agrupación, por lo que se fijan unos márgenes de tamaño en función del aumento.
- La forma, caracterizada por una medida de circularidad, que es igual al área de la agrupación dividido por la distancia media entre cualquier punto y un punto de referencia de la agrupación. Esta medida es máxima para objetos de forma circular.

**Conclusiones para la detección:** entre los métodos de segmentación, se ha escogido el método de la derivada de histograma como el más adecuado, por su rapidez, alrededor de los 7 segundos, y por su fiabilidad en la detección. Con la inclusión de los algoritmos de discriminación por área y circularidad se consigue mejorar los resultados de la detección, eliminando agrupaciones de píxels incorrectas.

## **3. SEGUIMIENTO DE ESPERMATOZOIDEOS**

Para este estudio se ha utilizado una secuencia de 16 imágenes separadas por la frecuencia de barrido de la imagen, es decir de 1/25 segundos, de esta forma se han obtenido las trayectorias para un amplio margen de velocidades con las que se desplazan los espermatozoides. Para obtener las trayectorias se han considerado dos posibles soluciones:

### **3.1. Por seguimiento de máximo nivel de gris**

Una vez realizada la detección en la primera imagen, se elige como punto representativo de cada célula el punto de máximo nivel de gris y se retienen sus coordenadas. La búsqueda de la nueva posición de la célula en la siguiente imagen, se realiza en un entorno de las coordenadas obtenidas en la imagen anterior, y se escoge de nuevo el punto de máximo nivel de gris en esa zona, como el siguiente punto de la trayectoria. Se procede del mismo modo para cada célula y para el conjunto de imágenes de la secuencia.

### **3.2. Por correlación**

Una vez realizada la detección en la primera imagen, se centra la búsqueda considerando no sólo un punto representativo, sino la célula entera. En la

imagen siguiente y en la misma zona donde se ha detectado una célula se realiza una correlación con la agrupación obtenida, a fin de detectar su nueva posición. Con esta solución disminuyen los errores producidos por cruces de trayectorias cuando la concentración es elevada.

**Conclusiones para el seguimiento:** si bien la obtención de trayectorias es más fiable por correlación, el coste computacional es mucho menor para el seguimiento por nivel de gris, con resultados igualmente válidos. No se descarta la posibilidad de usar cualquiera de las dos soluciones anteriores según las exigencias del momento.

#### 4. OTRAS CONSIDERACIONES GENERALES [5]

A partir de la trayectorias obtenidas en el seguimiento, se han desarrollado otros algoritmos complementarios para la obtención de parámetros de movilidad. Además, se ha realizado un estudio estadístico de inferencia de resultados a la totalidad de la población, así como otras utilidades, como es el caso de un menú, para su uso en el laboratorio.

#### 5. CONCLUSIONES FINALES

Se han cumplido los objetivos establecidos ya que se ha desarrollado un método robusto para la detección de espermatozoides fiable y a la vez rápido; se han escogido dos características, de área y circularidad, que identifica a los espermatozoides de otras irregularidades, mejorando así los resultados obtenidos en la detección; y finalmente se han desarrollado dos soluciones para el seguimiento de trayectorias, igualmente válidas y cuya elección depende de las exigencias de tiempo o precisión.

#### REFERENCIAS

- [1] D.F.Katz, and R.O. Davis, Automatic analysis of human sperm motion. *J Androl* 1987, 8:170-171.
- [2] Pratt, *Digital Image Processing*, cap 19, 1978.
- [3] A. Martelli, Edge detection using heuristic search methods. *Computer graphics and Image processing* 1,169-187 (1972).
- [4] R.O. Duda and P.E. Hart, *pattern classification and scene analysis*. Wiley, New York (1973).
- [5] E. Sayrol, Detección y evaluación de células a partir de imágenes de microscopio, P.F.C., Junio 1989
- [6] J.S. Wesza, A survey of Threshold selection techniques. *Computer graphics and Image processing* 7,259-265 (1978)
- [7] W.A. Yasnoff, J.K. mui and J.W. Bacus, Error measures for scene segmentation. *Pattern recognition* 9,217-231 (1977)
- [8] K. Castleman, *Digital Image Processing*, cap 16 (1979)
- [9] K.S. Fu and J.K.Mui. A survey on Image segmentation, *Pattern Recognition Vol 13* pp 3-16