

Automatic Design of Color W-Operators to Segment White Blood Cells in Images of Acute Lymphoblastic Leukemia

Susana C. Guevara C.¹, Juan I. Pastore¹, Virginia L. Ballarin¹

¹ *Laboratorio de Procesamiento Digital de Imágenes, Instituto de Investigaciones Científicas y Tecnológicas en Electrónica (ICYTE - CONICET), Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina.*

Abstract— This paper proposes the automatic design of color W-operators to segment white blood cells of acute lymphoblastic leukemia in images in RGB color space. The design of the proposed W-operators consists of two stages, one for training and one for testing. The training stage is carried out marginally for each of the RGB color space channels. For the training stage, we use different sets of n-pairs of images to obtain an array of observations, for each channel, with their respective labels observed in a window of size k. In the test stage, the three associated W-operators obtained in the previous stage are combined, obtaining a color W-operator. The proposed method was used to segment white blood cells with satisfactory results. To validate this method, a free access database of Leukocyte Images for Segmentation and Classification (LISC) was used. From the results, it can be concluded that the proposed W-operator color allows better segmentation than those defined from a single channel or the linear combination of the three channels.

Keywords— W-operators, color spaces, segmentation, leukemia, white blood cells.

Resumen— En este trabajo se propone el diseño automático de W-operadores color para la segmentación de glóbulos blancos en imágenes de leucemia linfoblástica aguda, representadas en el espacio color RGB. El diseño de los W-operadores propuestos consta de dos etapas, una etapa de entrenamiento y otra de testeo. El entrenamiento se realiza en forma marginal para cada uno de los canales del espacio color RGB. Para la etapa de entrenamiento, se utilizan diferentes conjuntos de n-pares de imágenes obteniendo una matriz de observaciones, para cada canal, con sus respectivas etiquetas observadas en una ventana de tamaño k. En la etapa de prueba, se combinan los tres W-operadores asociados en la etapa anterior, obteniendo un W-operador color. El método propuesto se utilizó para la segmentación de los glóbulos blancos con resultados satisfactorios. Para validar el método se utilizó una base de datos denominada LISC (*Leukocyte Images for Segmentation and Classification*), de acceso libre. A partir de los resultados, se puede concluir que el color W-operador propuesto, permite una mejor segmentación que aquellas definidas a partir de un canal único o de la combinación lineal de los tres canales.

Palabras clave— W-operadores, espacios color, segmentación, leucemia, glóbulos blancos.

I. INTRODUCCIÓN

La leucemia linfocítica aguda (LLA) o leucemia linfoblástica aguda, es una enfermedad hemática relacionada con los linfocitos de la médula ósea y sangre periférica que afecta mayoritariamente a niños. Esta patología es de rápida propagación en el torrente sanguíneo y otros órganos, por lo que un diagnóstico temprano es decisivo para la recuperación de los pacientes. El diagnóstico de LLA es complejo, teniendo en cuenta que los síntomas son similares a otras enfermedades [1].

Para realizar un correcto diagnóstico de la LLA es común, en la práctica clínica, realizar estudios minuciosos de muestras de sangre periférica a través de microscopios buscando malformaciones en los glóbulos blancos por la presencia de cáncer. Por lo general, los especialistas experimentados clasifican y recuentan las células de forma manual, trayendo aparejada falta de precisión y variabilidad intra e inter-especialista. La preparación de la muestra de sangre incluye un colorante que se concentra solo en los glóbulos blancos, particularmente en sus núcleos [1].

La segmentación automática de los glóbulos blancos es un problema difícil y desafiante debido a la diversidad morfológica de los glóbulos blancos y al complejo fondo de las imágenes microscópicas de sangre [2][3][4].

Las imágenes provenientes del microscopio son imágenes color por lo que es de interés utilizar la información de este descriptor para la segmentación propuesta.

Los W-operadores han sido utilizados para la segmentación de imágenes binarias y en niveles de gris, siendo su extensión al dominio de imágenes color un problema abierto. Estos operadores deben ser invariantes a la traslación y localmente definidos por una ventana W [5]. De acuerdo a esta última condición, el resultado en un píxel dado, queda determinado examinando una región finita delimitada por una ventana no vacía W alrededor del píxel [6].

Un enfoque muy utilizado en la bibliografía es el diseño de W-operadores a partir de una familia de pares de imágenes, donde cada par está formado por la imagen original y su respectivo *gold standard*. Por lo tanto, estimar un W-operador a partir de un conjunto de entrenamiento es

un problema de optimización donde a través de función de pérdida se evalúa el error de clasificación [7].

A partir de este enfoque, en este trabajo se propone el diseño automático de W-operadores color para la segmentación de glóbulos blancos en imágenes de leucemia linfoblástica aguda como soporte al diagnóstico clínico.

El trabajo está organizado de la siguiente manera. La sección II presenta los materiales y métodos utilizados en la investigación, la sección III presenta los resultados obtenidos aplicando el método propuesto, la sección IV presenta la discusión sobre el método aplicado y finalmente la sección V presenta las conclusiones obtenidas.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

A. W-operadores

Una imagen digital en el espacio discreto $\mathbb{E} = \mathbb{Z}^2$, es representada por una función de la forma $O : \mathbb{E} \rightarrow L$, donde $L = \{0, 1, \dots, l-1\}$ son los niveles de grises de la imagen. Para el caso de imágenes en escala de grises l puede tomar un valor en el intervalo natural $\llbracket 1, 256 \rrbracket$, mientras que para imágenes binarias $l = 2$.

El conjunto de todas las imágenes definidas en \mathbb{E} con niveles de gris L se denota como $L^{\mathbb{E}}$, es decir $L^{\mathbb{E}} = \{O \mid O : \mathbb{E} \rightarrow L\}$ [8].

Un operador de imagen es un mapeo de la forma $\Psi : L^{\mathbb{E}} \rightarrow L^{\mathbb{E}}$. Dada una imagen O , $[\Psi(O)](p)$ representa el nivel de gris de la imagen transformada O en el punto p [8][9].

Los operadores que son invariantes a la traslación y localmente definidos dentro de una ventana W son conocidos como W-operadores. Un W-operador Ψ se define y representa por una función característica [8][10].

El W-operador Ψ puede caracterizarse para cualquier punto p por una función característica $\psi : L^W \rightarrow L$ de la siguiente manera:

$$[\Psi(O)](p) = \psi(O_{\cdot p} | W) \quad (1)$$

La ecuación anterior significa que el valor de salida de la imagen transformada $\Psi(O)$ de una imagen de entrada O , en el punto p , puede ser calculado por una función característica ψ aplicada en la subimagen $O_{\cdot p} | W$ alrededor de p restringida a W [8][9].

Un buen diseño de un W-operador es fundamental para minimizar el error de la segmentación a partir de su aplicación.

B. Diseño automático de W-operadores en grises

Un enfoque muy utilizado en la bibliografía es el diseño de W-operadores a partir de una familia de pares de imágenes, donde cada par está formado por una imagen O y su respectivo *gold standard* I . Formalmente, dada una familia de pares de imágenes $\{(O_i, I_i)\}_{i=1}^n$, el objetivo del diseño automático es encontrar un W-operador Ψ tal que la

imagen transformada $T_i = \Psi(O_i)$ se aproxime a la imagen ideal I_i . Esta aproximación puede ser cuantificada por una medida de error [7]. La medida de error más utilizada es el error cuadrático medio *ECM* evaluado en cada pixel arbitrario $p \in \mathbb{E}$, expresado a continuación [10]:

$$EMC(\Psi) = E \left[\left[\Psi(O)(p) - I(p) \right]^2 \right] \quad (2)$$

Sea $(X_{i,p}, Y_{i,p})$ el par compuesto por una observación en la ventana W en la posición p en la imagen O_i y el valor de la imagen I_i en la misma posición, las duplas (O_i, I_i) son realizaciones de procesos estocásticos conjuntamente estacionarios, donde las realizaciones de X son subconjuntos de W y las realizaciones de Y corresponden a $(0, 1)$. El operador óptimo ψ con respecto al error cuadrático medio *ECM* es caracterizado en términos de las probabilidades condicionales $P(X/Y)$ como se muestra a continuación [10]:

$$\psi(X) = \begin{cases} 1 & \text{si } P(Y=1/X) > P(Y=0/X) \\ 0 & \text{si } P(Y=1/X) < P(Y=1/X) \end{cases} \quad (3)$$

En la práctica, estas probabilidades no son conocidas a priori, pero se pueden estimar a partir de una familia de pares de imágenes de entrenamiento $\{(O_i, I_i)\}_{i=1}^n$, donde n es el número total de imágenes.

El procedimiento para entrenar un W-operador es el siguiente:

a) primero se desliza la ventana W sobre cada píxel p de la imagen O_i y se almacenan las observaciones $(X_{i,p}, Y_{i,p})$.

b) En una segunda etapa se calculan las frecuencias $frec(Y=0/X)$ y $frec(Y=1/X)$ para valores de píxeles 0 y 1 en la imagen *gold standard* respectivamente. A partir de dichas frecuencias relativas se obtiene la estimación de las probabilidades condicionales $P(Y=0/X)$ y $P(Y=1/X)$.

c) Finalmente, se asigna un valor a ψ utilizando la ecuación (3) para cada observación de ventana W .

Para el caso de las imágenes color, el procesamiento marginal es muchas veces cuestionado por la posibilidad de aparición de falsos colores, es decir, colores que no están originalmente en la imagen. Sin embargo, para el diseño de W-operadores el aporte de cada una de las componentes permite minimizar el error cuadrático medio generando una optimización en el diseño. Es por esto que para este trabajo se propone el diseño de W-operadores color mediante un procesamiento marginal.

C. Diseño automático del W-operador color para la segmentación de glóbulos blancos.

Continuando con el marco teórico anterior, para el diseño automático de W-operadores color se considera una familia de imágenes observada e ideal $\{(O_i, I_i)\}_{i=1}^n$. La imagen observada O_i es una imagen color representada en el espacio

color RGB y modelada por una función $O_i: \mathbb{E} \rightarrow \mathbb{R}^3$, mientras que la imagen ideal $I_i: \mathbb{E} \rightarrow \{0,1\}$ es una imagen binaria.

Para esta aplicación en particular el conjunto de imágenes observadas se formó con un total de 50 muestras de la base de datos pública denominada LISC (*Leukocyte Images for Segmentation and Classification*) [1]. De las cuales 25 muestras se utilizaron para el entrenamiento del operador y las restantes para el testeo. Las imágenes *gold standard* se obtuvieron a partir del conjunto de imágenes originales mediante la segmentación de los glóbulos blancos por parte de un grupo de expertos.

A partir de esta familia de imágenes, el diseño del W-operador propuesto consta de dos etapas, una de entrenamiento y otra de testeo. La etapa de entrenamiento se realiza en forma marginal para cada uno de los canales del espacio color RGB. Por cada canal se construye una tabla de frecuencias y se estiman las probabilidades condicionales $P(Y=0/X)$ y $P(Y=1/X)$.

A partir de estas probabilidades condicionales se determina los valores de la función característica ψ utilizando la ecuación (3). Los valores de ψ corresponden a la clase o etiqueta de cada observación. Finalmente, a partir los operadores diseñados para cada uno de los canales se construye el W-operador marginal realizando una operación lógica de conjunción.

III. RESULTADOS

En esta sección, se presentan los resultados obtenidos al aplicar los W-operadores color diseñados para diferentes tamaños de ventana W , junto con un análisis comparativo frente a W-operadores en niveles de gris.

En la Fig. 1 se muestra la segmentación de glóbulos blancos en imágenes color de leucemia linfoblástica aguda a partir del W-operador marginal propuesto para un tamaño de ventana de 3×3 .

En la primera columna se muestran las imágenes originales y en la segunda las imágenes segmentadas por el W-operador color marginal propuesto.

En la Fig. 2 se observa el resultado de una segmentación realizada a una imagen completa a partir del diseño del operador color con el mismo entrenamiento acotado a subimágenes. De los resultados se puede concluir que el W-operador diseñado se extiende a una imagen con la presencia de múltiples células, sin la necesidad de un nuevo entrenamiento.

Finalmente, para analizar el aporte del color en la segmentación de los glóbulos blancos se compararon los resultados obtenidos con la aplicación del W-operador a imágenes en niveles de gris donde se descarta la información del color:

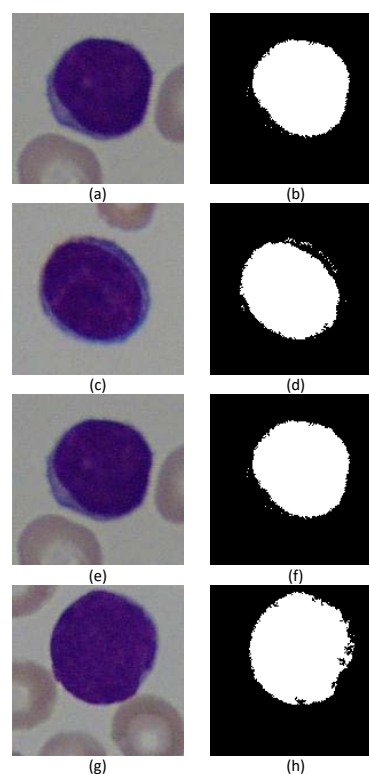


Fig. 1: Imágenes Segmentadas. (a) (c) (e) (g). Imágenes Originales. (b) (d) (f) (h). Imágenes segmentadas por el método propuesto.

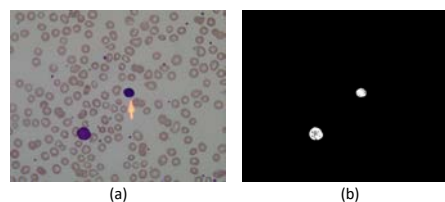


Fig. 2: Imagen Completa Segmentada. (a). Imagen Completa Original. (b). Imagen completa segmentada por el método propuesto.

aplicación 1 (A1): se aplicó un W-operador únicamente para el canal R de la imagen a color RGB,

aplicación 2 (A2): se aplicó un W-operador únicamente para el canal G de la imagen a color RGB,

aplicación 3 (A3): se aplicó un W-operador únicamente para el canal B de la imagen a color RGB,

aplicación 4 (A4): se aplicó un W-operador a una imagen en niveles de gris obtenida como el promedio de los tres canales de la imagen a color $(R+G+B)/3$.

Para realizar un análisis cuantitativo de los resultados se calculó la matriz de confusión para cada uno de las aplicaciones A1, A2, A3 y A4, obteniendo las siguientes métricas conocidas [1]: verdaderos positivos TP , verdaderos negativos TN , falsos positivos FP y falsos negativos FN . Además sobre el número total de imágenes segmentadas, se calcularon los siguientes parámetros: sensibilidad $Sens = TP / (TP + FN)$, la cual mide el número de píxeles que realmente pertenecen a los glóbulos blancos y que se clasificaron correctamente; especificidad $Spec = TN / (TN + FP)$ que determina el número de píxeles que no pertenecen a los glóbulos blancos y que se clasificaron correctamente y finalmente la exactitud $Exac = TP / (TP + FP)$ que mide la proporción de píxeles

que han sido clasificadas como glóbulos blancos y que están realmente en el área de los glóbulos blancos. Estos valores se muestran en la Tabla I.

TABLA I
RESULTADOS OBTENIDOS POR EL ALGORITMO PROPUESTO CON OTRAS APLICACIONES.

	A 1	A 2	A 3	A 4	W-operador color
TP(%)	50.41	76.06	12.244	74.282	84.131
TN(%)	98.479	98.841	99.697	98.713	97.711
FP(%)	1.5214	1.1594	0.3033	1.2866	2.2894
FN(%)	49.59	23.94	87.756	25.718	15.869
SENS(%)	50.41	76.06	12.244	74.282	84.131
ESPEC(%)	98.479	98.841	99.697	98.713	97.711
EXAC(%)	70.324	82.431	74.274	80.504	72.438

La Tabla I presenta métricas de evaluación del método propuesto versus 4 aplicaciones diferentes en niveles de gris. Para verdaderos positivos *TP*, el mayor valor corresponde al método propuesto de 84,131%, mientras que el menor valor con 50,41% corresponde a la aplicación de un w-operador diseñado únicamente para el canal R. Para verdaderos negativos *TN*, el mayor valor corresponde a la aplicación 3 con 99,697%, mientras que el menor valor con el 97,711% corresponde al método propuesto. Para falsos positivos *FP*, el mayor valor corresponde al método propuesto con 2,289%, mientras que el menor valor con 0,3033% corresponde a la aplicación 3. Para falsos negativos *FN*, el mayor valor corresponde a la aplicación 3, es decir, la aplicación de un w-operador diseñado únicamente para el canal B, con 87,756%, mientras que el menor valor con 15,869% corresponde al método propuesto. La mejor sensibilidad se obtiene con el método propuesto con un 84,131%. El mejor valor de especificidad, resulta para la aplicación 3 con un valor de 99,697.

En la Tabla II se presentan el error cuadrático medio *ECM* obtenido para cada una de las cuatro aplicaciones que se plantearon anteriormente para una ventana de 3x3, siendo el menor error cuadrático medio es para el método propuesto con un valor de 3,1958%.

TABLA II
COMPARACIÓN DEL ERROR CUADRÁTICO MEDIO OBTENIDO POR EL ALGORITMO PROPUESTO CON LOS CLASIFICADOS POR OTRAS APLICACIONES.

	Método 1	Método 2	Método 3	Método 4	W-operador color
ECM(%)	4.7297	2.6799	6.1404	2.9173	3.1958

En la Fig. 3, se muestra la tendencia del error cuadrático medio por cada uno de los métodos en función del tamaño de la ventana *W* (3x3, 5x5 y 7x7).



Fig. 3: Errores Cuadráticos Medios para diferentes W-ventanas.

Observando la gráfica de la Fig. 3 es evidente que el operador diseñado con una ventana de 3x3 presenta el menor error de aproximación.

IV. CONCLUSIONES

En este trabajo se presentó el diseño de un W-operador color para la segmentación de glóbulos blancos de muestras de leucemia linfoblástica aguda para asistir al diagnóstico clínico.

Se pudo comprobar a partir de los experimentos realizados que la utilización de imágenes color tiene un aporte adicional de información para el diseño de W-operadores. Esto queda demostrado a partir del alto valor de sensibilidad respecto a las otras 4 aplicaciones donde no se tuvo en cuenta el aporte del color para las condiciones experimentales diseñadas. Si bien la especificidad del método propuesto es ligeramente menor que en la aplicación 3, los valores de sensibilidad, exactitud y error cuadrático medio denotan el aporte del color en el diseño del W-operador.

También a modo de conclusión, para este tipo de imágenes se comprobó empíricamente que el tamaño óptimo de ventana *W* para la etapa de entrenamiento fue de 3x3.

Finalmente, es importante destacar que el diseño del W-operadores color puede realizarse con subimágenes de una sola célula, para finalmente ser testeado sobre imágenes multicelulares, disminuyendo de esta manera ordenes de magnitud del costo computacional durante el entrenamiento.

Como trabajo futuro se propone estudiar otros métodos para combinar de forma marginal W-operadores color diferentes al *and* lógico.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo, realizado en el Laboratorio de Procesamiento Digital de Imágenes, fue apoyado por el Instituto de Investigaciones Científicas y Tecnológicas en Electrónica, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), y la Universidad Nacional de Mar del Plata.

REFERENCIAS

- [1] S. H. Rezaatofghi and H. Soltanian-Zadeh, "Automatic recognition of five types of white blood cells in peripheral blood," *Comput. Med. Imaging Graph.*, vol. 35, no. 4, pp. 333–343, 2011.
- [2] A. Tareef, Y. Song, D. Feng, M. Chen, and W. Cai, "Automated multi-stage segmentation of white blood cells via optimizing color processing," *Proc. - Int. Symp. Biomed. Imaging*, pp. 565–568, 2017.
- [3] Y. Li, R. Zhu, L. Mi, Y. Cao, and D. Yao, "Segmentation of White Blood Cell from Acute Lymphoblastic Leukemia Images Using Dual-Threshold Method," *Comput. Math. Methods Med.*, vol. 2016, 2016.

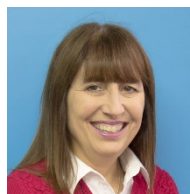
- [4] S. Alayón, J. L. Sánchez, J. F. Sigut, and J. A. Méndez, "Segmentación automática de núcleos solapados en imágenes de citologías," 2002.
- [5] M. M. Dornelles, "Construção e seleção de janelas na combinação de W-operadores," Universidade de Sao Paulo, 2015.
- [6] M. M. Dornelles and N. S. T. Hirata, "Selection of Windows for W-Operator Combination from Entropy Based Ranking," *Brazilian Symp. Comput. Graph. Image Process.*, vol. 2015-October, pp. 64–71, 2015.
- [7] D. C. Martins, R. M. Cesar, and J. Barrera, "W-operator window design by minimization of mean conditional entropy," *Pattern Anal. Appl.*, vol. 9, no. 2–3, pp. 139–153, 2006.
- [8] I. S. Montagner, N. S. T. Hirata, and R. Hirata, "Image Operator Learning and Applications," *Proc. - 2016 29th SIBGRAP Conf. Graph. Patterns Images Tutorials, SIBGRAP-T 2016*, pp. 38–50, 2017.
- [9] N. S. T. Hirata, I. S. Montagner, and R. Hirata, "Comics image processing: Learning to segment text," *ACM Int. Conf. Proceeding Ser.*, no. December, 2016.
- [10] M. E. Benalcazar Palacios, "Aprendizaje computacional y morfología matemática aplicados al procesamiento de imágenes biomédicas," Universidad Nacional de Mar del Plata, 2014.



Susana C. Guevara obtuvo su título de Lic. en Biofísica otorgado por la ESPOCH, Ecuador, en el año 2015. Desde el año 2017 es becaria doctoral CONICET. En el marco de esta beca se encuentra cursando el Doctorado en Bioingeniería en la Facultad de Ingeniería de la UNMDP, tesis: Reconocimiento de patrones y aprendizaje computacional aplicados al diseño automático de operadores morfológicos para segmentación de imágenes color.



Juan I. Pastore es Profesor en Matemática y Licenciado en Ciencias Matemáticas, títulos otorgados por la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Mar del Plata. En año 2009 obtuvo el título de Doctor en Ingeniería orientación Electrónica. Desde el año 1998 es miembro del Laboratorio de Procesamiento de Imágenes, dependiente del Instituto en Ciencias y Tecnología en Electrónica (ICYTE). Su área de investigación se ha centrado en el Procesamiento de Imágenes aplicando técnicas de Morfología Matemática. Actualmente es Profesor en el Área de Matemática Aplicada y vicedirector del Laboratorio de Procesamiento de Imágenes. También se desempeña como investigador del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de la República Argentina.



Virginia L. Ballarin Virginia Ballarin es Ingeniera Electrónica y Magister Scientiae en Epistemología y Metodología de la UNMDP y Dra. en Cs. Biológicas or. Bioingeniería de la UNT. Actualmente es Profesora Titular del Dpto. de Ing. Electrónica de la UNMDP. Es Investigadora categoría 1, Directora del Laboratorio de Procesamiento Digital de Imágenes perteneciente al Instituto en Ciencias y Tecnología en Electrónica (ICYTE) CONICET-UNMDP. Ha dirigido 20 tesis de postgrado y más de 25 becarios de CONICET. Es autora de 5 capítulos en libros, más de 75 trabajos en revistas internacionales con referato y más de 130 trabajos en congresos internacionales y nacionales. Desde el año 2017 es miembro del Consejo Directivo del ICYTE y Directora del Programa de Doctorado en Bioingeniería de la UNMDP. Ha sido Presidente de la Sociedad Argentina de Bioingeniería desde el año 2013 al 2015 y Presidente del Capítulo Argentino de la IEEE EMB Society desde el 2016 al 2018.