

# Cálculo de descriptores morfométricos y geométricos en la identificación de variaciones morfológicas en el eritrocito

Romina Robert Pérez<sup>1</sup> / Mayelín Macías Norat<sup>2</sup>

**RESUMEN.** En el presente trabajo se expone una metodología que haciendo uso de técnicas de visión computacional y mediante el cálculo de un conjunto de descriptores morfométricos y geométricos, permite la descripción de la morfología de los glóbulos rojos. Se presentan además los resultados obtenidos en la segmentación de los glóbulos rojos, mediante la Transformada de Watershed controlada por marcas. Finalmente se muestran las comparaciones realizadas a los descriptores propuestos a fin de encontrar diferencias entre glóbulos normales y anormales.

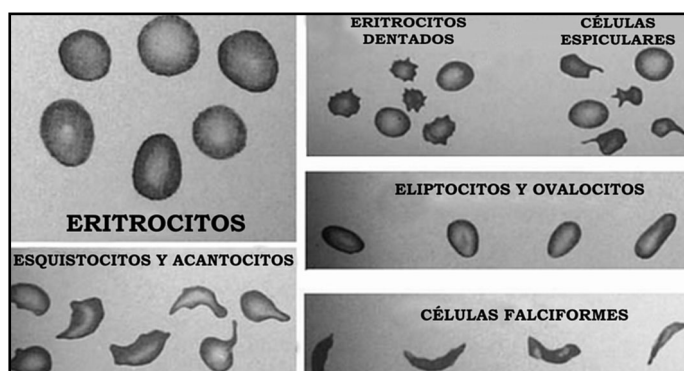
## 1. INTRODUCCIÓN

Los análisis clínicos de muestras sanguíneas permiten determinar el estado de salud de una persona con respecto a ciertas enfermedades. Esto es posible a partir de un conjunto de indicadores entre los que se encuentran, desde el número de células presentes en las tres series celulares sanguíneas<sup>3</sup>, hasta el tipo de sangre y/o concentración de ciertos elementos en ésta.

Dentro de estos análisis clínicos, se lleva a cabo el análisis de la serie eritrocítica, compuesta por los glóbulos rojos o eritrocitos [5]. Los glóbulos rojos en estado normal o sano, se caracterizan por un tamaño promedio y por su forma discoidal biconcava. De existir alguna alteración en la morfología de estos, dicha funcionalidad se verá modificada, provocándose así una determinada patología.

Entre las principales alteraciones morfológicas dentro de la serie eritrocítica; se referencian en la literatura los eritrocitos dentados, que poseen una periferia en forma de sierra, los espiculares y acantocitos, que presentan cambios notables en su forma, los ovalocitos, cuya for-

ma varia desde oval a elíptica, y los falciformes o drepanocitos que figuran forma de hoz, entre otros. Ejemplos, tanto de glóbulos en estado de anomalía como normalidad pueden observarse en la figura 1.



**Fig. 1** Eritrocitos en estado normal (izquierda-superior). Algunas de las formas eritrocíticas anormales descritas en la literatura (izquierda-inferior y derecha).

Para la detección de estas alteraciones, tradicionalmente se realiza un examen cualitativo o examen morfológico. Este examen cualitativo es realizado mediante la tinción de láminas de extendidos sanguíneos en sangre periférica<sup>4</sup>, y su posterior interpretación al microscopio por un laboratorista clínico.

<sup>1</sup> Dpto. de Ing. Biomédica, Facultad de Ingeniería Eléctrica, Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba, romina@fie.uo.edu.cu, Ave. de las Américas y Casero s/n, CP: 90900

<sup>2</sup> Dpto. de Ing. Informática, Facultad de Ingeniería Eléctrica, Universidad de Oriente, Cuba.

<sup>3</sup> Series eritrocítica, leucocítica y plaquetaria.

<sup>4</sup> Sangre que circula por todo el cuerpo.

Existen actualmente sistemas automatizados de diagnóstico de alteraciones en la serie eritrocítica, pero debido a sus grandes costos, en nuestro país, una gran parte de este proceso es realizado de manera tradicional. Este procedimiento manual puede acarrear errores debido al factor subjetivo que involucra, añadiendo además una demora en la obtención de los resultados.

De lo anterior se destaca la necesidad de la existencia de sistemas automatizados de apoyo con este fin. Como paso inicial al desarrollo de un sistema similar, en el presente trabajo se propone, haciendo uso de técnicas de visión computacional en imágenes de extendidos sanguíneos, un metodología para la extracción de un conjunto de descriptores morfométricos y geométricos que permitan la descripción de la morfología de los glóbulos rojos. Se presentan además, los resultados obtenidos a partir de la segmentación realizada mediante La Transformada de Watershed controlada por marcas, así como los resultados de las comparaciones realizadas entre los descriptores determinados, a fin de encontrar diferencias entre eritrocitos normales y anormales.

## 2. METODOLOGÍA

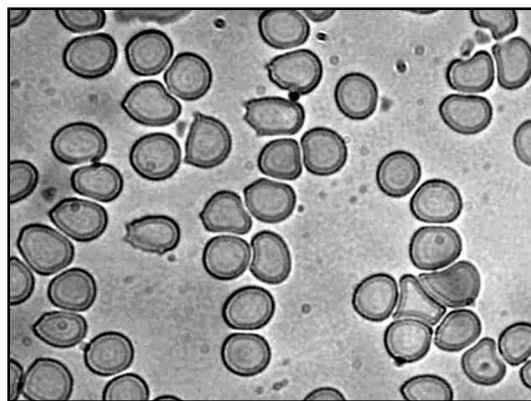
### Preprocesado y Segmentación

Se emplean imágenes de láminas de extendidos de sangre periférica, tratadas con colorante de Giemsa. La adquisición de estas imágenes se realizó a través de una cámara digital (Canon Power Shot A630) adaptada a un microscopio óptico (Novel-N200), y observadas a un aumento de 100X y 80X. Estas imágenes son tomadas a color, con resoluciones espaciales variables de 3264x2448 y 640x480 píxeles, y con una profundidad de 8 bits por canal de color.

Inicialmente las imágenes son convertidas a escala de grises. Teniendo en cuenta las propiedades que presenta este, se aplica un filtro gaussiano para la atenuación del ruido [1]. Debido a que las condiciones de iluminación durante la captura de las imágenes fueron variables, se realiza un ajuste del brillo y ecualización del histograma a fin de homogeneizar los parámetros de brillo y contraste.

La información de interés para el procesado en las imágenes tomadas, la consti-tuyen los

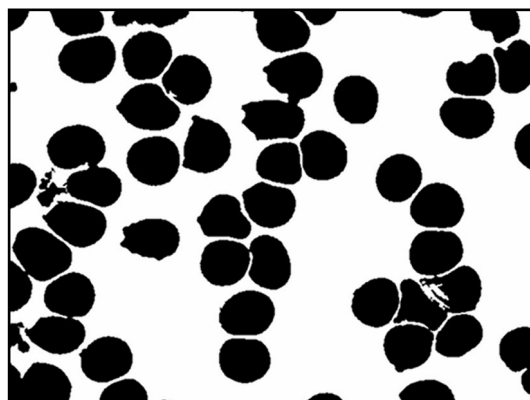
glóbulos rojos, pero además de estos suelen aparecer en las imágenes, estructuras de menor tamaño (puede observarse en la figura 2), esto debido fundamentalmente a las condiciones del preparado en las láminas de extendido sanguíneo. Estas estructuras que constituyen información no relevante, ralentizan y entorpecen las posteriores etapas de procesamiento.



**Fig. 2** Imagen de glóbulos normales tomada a 80x.

Para disminuir esta situación se descompone la imagen mediante filtros morfológicos, empleándose el operador morfológico de apertura [2] [3]. Este operador de apertura elimina aquellas estructuras que, después de erosionadas por el elemento estructurante al dilatarlas no se pueden recuperar.

Se aplica además una operación de reconstrucción morfológica, con el objetivo de preservar la forma y tamaño de los glóbulos rojos después de las operaciones anteriores [2]. En la figura 3 se puede observar la eliminación de las estructuras después de aplicados los operadores morfológicos.



**Fig. 3** Binarización + Operador de apertura + Reconstrucción morfológica.

Dadas las características de cantidad y localización de los glóbulos rojos en las imágenes, como técnica de segmentación, se implementa la Transformada de Watershed (TW). Esta técnica es usualmente aplicada en situaciones donde los objetos a segmentar se tocan [4], caso particular de las imágenes en estudio.

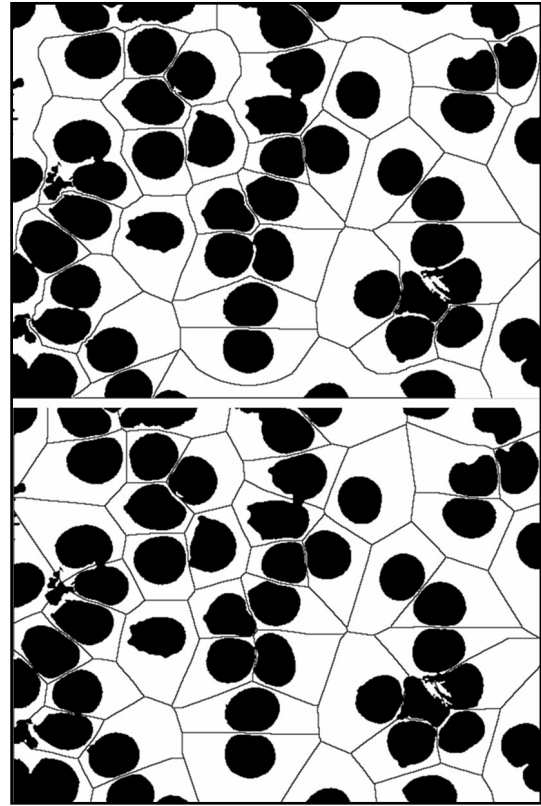
La segmentación mediante la TW, separa la imagen en regiones asociadas a los mínimos locales, y es aplicada generalmente haciendo uso de una máscara que guía el proceso. La construcción de estas máscaras es variada, ejemplos de máscaras descritas en la literatura, están, la transformada de la distancia [4], las que utilizan operadores morfológicos [2] y las de marcas en el mapa del gradiente [2].

En este trabajo se utiliza la segmentación Watershed controlada por marcas externas (fondo) e internas (objetos de interés), ya con ésta se elimina notablemente la sobre segmentación causada al emplear otros métodos más sencillos.

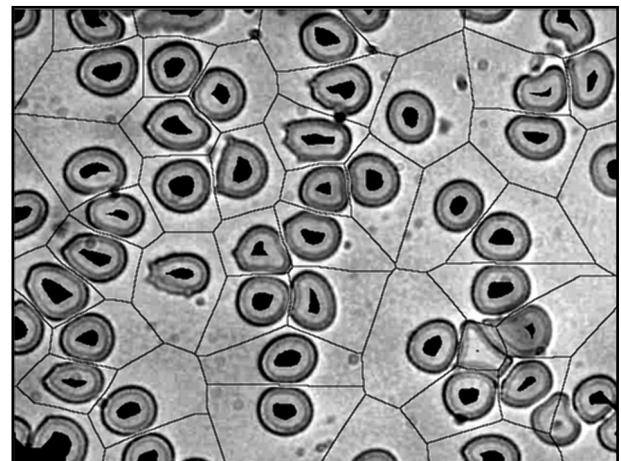
Para determinar las marcas externas, se utiliza la TW de La Transformada de la distancia negada [2]. A partir de ésta, se determina el esqueleto de la TW, que resulta en los límites externos entre los glóbulos rojos. El cálculo de la transformada de la distancia se realiza sobre la imagen anteriormente procesada, y umbralizada mediante el método de elección de umbral de Otsu [1].

Debido a que, cuando los objetos están muy unidos, como se presentan casos en las imágenes en particular, La Transformada de la distancia negada no delimita los bordes entre ellos, se hace necesario aplicar algún operador que adelgace estas conexiones. Con este fin se utiliza el operador morfológico de erosión; el tamaño del elemento estructurante se eligió de manera empírica, atendiendo a los resultados obtenidos. Se puede observar en la siguiente figura (abajo), cómo son delimitados nuevos glóbulos rojos después de erosionar la imagen umbralizada.

Para establecer las marcas internas, se elige el resultado de la umbralización, al cual se le aplica igualmente el operador de erosión. El elemento estructurante aplicado en la operación es el mismo que en el paso anterior. Esto es necesario debido a que no es deseable que se toquen las marcas internas y externas al aplicar la técnica de la TW [2].



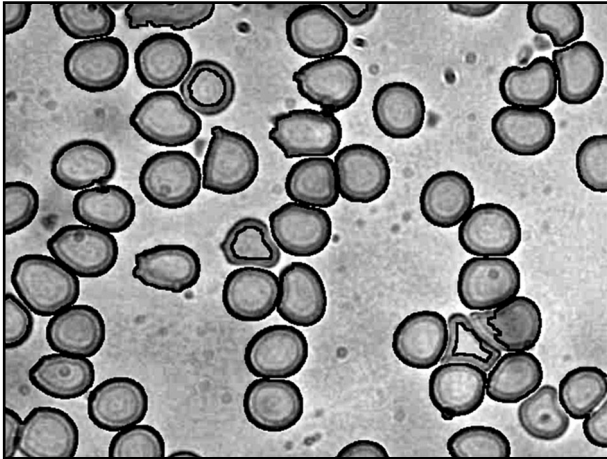
**Fig. 4** Superposición en la imagen binaria del resultado de aplicar la TW a La Transformada de la distancia negada de la imagen umbralizada (arriba). Superposición en la imagen binaria del resultado de aplicar la TW a La Transformada de la distancia negada después de erosionar la imagen umbralizada (abajo).



**Fig. 5** Marcas interna y externas (color negro) superpuestas sobre la imagen original.

Como paso final en la segmentación, se calcula la TW del mapa de la magnitud del gradiente modificado, tal que, sólo existan zonas de mínimos en las localizaciones marcadas por

marcas internas y externas. El procedimiento de marcado del mapa de la magnitud del gradiente se realiza mediante el método de imposición mínima [2]. La segmentación final de los glóbulos rojos se puede observar en la figura 6.



**Fig. 6** Resultado de la segmentación (bordes en color negro) mediante el uso de TW controlada por marcas.

Esta segmentación, es depurada, eliminándose del conjunto de glóbulos rojos segmentados, aquellos que no se encuentren en un rango de tamaño fijado. Este tamaño se determinó teniendo en cuenta los valores de las áreas mínimas y máximas de los glóbulos rojos tanto sanos como enfermos. Realizar esta depuración es importante pues el procedimiento de segmentación empleado puede realizar segmentaciones que no completen la forma del glóbulo rojo, o no separen correctamente aquellos glóbulos rojos que se tocan, segmentado conglomerados de estos en vez de glóbulos individuales.

### CÁLCULO DE LOS DESCRIPTORES

A fin de describir los glóbulos morfométricamente, se determinan como descriptores:

- *Perímetro* de la región interna de los labios, definido como la suma de las distancias de los segmentos determinados por puntos subsecuentes.
- *Relación de aspecto* (RA) definida como la relación entre las longitudes de las axisas mayor y menor.

$$RA = \frac{L_{Ma}}{L_{Me}} \quad (1)$$

- *Área*, correspondiente a la región interna de los eritrocitos y es calculada mediante la ecuación:

$$A_{RI} = 1/2 \sum_{i=1}^n x_{i-1} y_i - x_i y_{i-1} \quad (2)$$

- *Factor de forma* calculado por la relación,

$$FF = \frac{P}{4\pi A} \quad (3)$$

Si bien los descriptores anteriores son capaces de brindar una descripción global de la forma de los objetos, en el caso específico de los glóbulos aún queda mucha información discriminante de su morfología sin capturar.

Parte de esta información se encuentra en la propia irregularidad existente en los bordes de los glóbulos. Mediante la geometría fractal es posible medir y caracterizar la irregularidad de los objetos con la dimensión fractal [6]. Los cálculos fractales han sido ampliamente empleados en las estructuras del cuerpo humano y en cuantificaciones en fisiología. Partiendo de lo señalado anteriormente se proponen calcular dos descriptores basados en esta geometría.

- Superficie en píxeles del objeto, dado como el número de píxeles que tocan el interior o el borde de la imagen medida.
- Número de espacios en el espacio del box counting, la medición de la dimensión fractal de box counting, requiere la superposición de dos rejillas, como mínimo, a la imagen medida. Las rejillas utilizadas fueron de 5 y 50 píxeles, estas medidas fueron seleccionadas a partir de lo expuesto en [7]. El número de espacios pequeños corresponde al número de espacios que tocan el borde de la imagen medida al superponer la rejilla de 5x5 píxeles.

Además de los descriptores antes mencionados se calcula la cantidad de glóbulos rojos segmentados por imagen, y el área promedio de estos.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los métodos que se describen fueron implementados en MatLab 7.7. Con el objetivo de realizar la evaluación de la metodología propuesta, se tomaron 25 Imágenes de extendidos sanguíneos.

Las imágenes tomadas fueron clasificadas siguiendo criterio de especialistas en 4 grupos, según el estado de normalidad o de enfermedad que presentaban la mayoría de los glóbulos rojos contenidos en ellas. Los grupos se definieron como I, II, III, y IV, y están constituidos por imágenes de glóbulos rojos sanos, eliptocitos, eritrocitos dentados, y células falciformes, respectivamente. El promedio de imágenes por grupo fue de 6, en cada imagen con glóbulos rojos normales aparecen como promedio 45 glóbulos según conteo visual y en las imágenes de glóbulos rojos anormales un promedio de 18.

Se fijaron los rangos de normalidad en los glóbulos rojos y a partir de estos se clasifican estados de normalidad y anormalidad. Estos rangos se tomaron teniendo en cuenta los promedios de los valores en los glóbulos rojos sanos. Para medir la efectividad de estos, se determinó el porcentaje de aciertos en la clasificación de normalidad o anormalidad que proveían individualmente.

Los resultados arrojaron; como eran de esperar, que el área no constituya un buen descriptor de anormalidad, comportándose el resto de los descriptores como buenos discriminantes para detectar las anomalías de los falciformes y ovalocitos. Los mejores índices de discriminación para este caso, se obtuvieron mediante el descriptor de relación de aspecto.

En el caso de los eritrocitos dentados los mejores comportamientos identificativos los tuvieron los descriptores geométricos.

En la siguiente tabla se muestra, el porcentaje promedio de aciertos en la clasificación de

los descriptores seleccionados por normalidad y alteración del glóbulo rojo en 8 imágenes de estudio. Para el cálculo de este indicador de aciertos se tomaron solamente la efectividad de los descriptores en los glóbulos rojos correctamente segmentados según criterio cualitativo del observador. En la tabla, se muestra también la cantidad de glóbulos rojos presentes en las imágenes según conteo visual y según el proceso automatizado. El conteo visual se realizó obviando aquellos glóbulos que exceden los límites de las imágenes.

#### 4. CONCLUSIONES

El presente trabajo, evidencia la posibilidad de determinar un pequeño conjunto de descriptores, representativos de la morfología de los glóbulos rojos de manera automática.

Es de resaltar que las técnicas propuestas tanto del procesamiento como descripción contemplan un moderado costo computacional.

Finalmente se valora conveniente efectuar las evaluaciones en un conjunto de imágenes más grande, con el objetivo de poder medir con mayor precisión la efectividad de los descriptores así como el estudio e inclusión de otros.

Si bien se evidencia la efectividad de la Transformada de Watershed controlada por marcas sobre otras implementaciones, todavía se presentan problemas de segmentación, por tanto se recomienda explorar otros modelos de segmentación que incorporen un mayor conocimiento a ésta.

**Tabla 1** Resultados de la clasificación de eritrocitos normales y anormales en 8 imágenes de estudio.

Grupos	Imágenes	Cant. de GR conteo visual	Cant. de GR conteo automatizado	Cant. de GR bien segmentados	% de aciertos en la clasificación
<b>Sanos</b>	IMG_1	48	47	44	100 %
	IMG_2	53	47	46	99 %
	IMG_3	46	39	35	100 %
	IMG_4	41	34	32	97 %
<b>Falciformes +Ovalocitos +Dentados</b>	IMG_1	16	14	12	95 %
	IMG_2	15	13	11	93 %
	IMG_3	20	16	12	95 %
	IMG_4	21	18	16	98 %

## 5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1]. Pajares G., De la Cruz J. M. Visión por Computador. México, Editorial AlfaOmega, 2002. pp. 291-294
- [2]. González C., Woods R. Digital Image Processing. New Jersey, Prentice Hall-2002. pp 626.
- [3]. Russ J. The image processing handbook. Washington, CRC. Chapter 7 pp. 28, 47.
- [4]. Ruberto, Dempster, Khan. Analysis of infected blood cell images using morphological operators, 2002, Image and Vision Computing, Volume 20, no. 2, pp. 133-146.
- [5]. Platt W. Atlas de Hematología en color. Barcelona, Editorial JIMS, 1972. pp 111-114, 185-190.
- [6]. Mandelbrot B. ¿Cuánto mide 1. la costa de Bretaña? En: Mandelbrot B. Los objetos Fractales. Barcelona:Tusquets Eds. S.A., 2000, p. 27-50.
- [7]. J Rodríguez, C Correa. Caracterización geométrica de los glóbulos rojos. Diferenciación de muestras normales y patológicas Rev. Cienc. Salud. Bogotá (Colombia) 6 (3): 47-56, septiembre-diciembre de 2008.

**ABSTRACT.** The present paper contains an investigation, resulting in a methodology that through the use of computational vision techniques, and the extraction of morfometrics and geometrics descriptors allows the morphological description the red blood cells we show the results obtained in segmentation to the blood cells using marker-controlled watershed segmentation. finally the obtained shape's descriptors were compared, looking for differences between normal and abnormal red blood cells.

**Key Words:** red blood cells, morfometrics descriptors, geometrics descriptors, Watershed.