

**SEGMENTACION DE CELULAS EN IMAGENES DIGITALES DEL ENDOTELIO
CORNEAL.**

Fis. Ricardo Toledo Crow

Centro de Instrumentos U.N.A.M.

**(Proyecto en colaboración con el Instituto de Oftalmología
Conde de Valenciana)**

RESUMEN

Se propone un método para segmentar las imágenes del endotelio corneal obtenidas de un microscopio especular. Por ser tomadas "in vivo", éstas resultan sumamente ruidosas y por lo tanto no son segmentables mediante métodos clásicos. El método propuesto emplea la generación de imágenes binarias a partir de la original y la extracción de los contornos de las células se efectúa con operaciones de conectividad como dilatación y esqueletización.

INTRODUCCION

La córnea es una estructura avascular estratificada en la cual un epitelio y un endotelio cubren un estroma central. El endotelio es la capa más posterior de la córnea, siendo la responsable del metabolismo corneal y de la deturgencia de ésta, lo que le permite funcionar como superficie refringente. Por esto, es ésta capa la más crítica durante un trasplante de córnea. El estudio de la morfología de las células que componen el endotelio corneal es importante en

las valoraciones de las córneas para el banco de ojos y en situaciones clínicas en donde la transparencia córnea se ve comprometida como en el diagnóstico de ciertas patologías endoteliales y en valoraciones pre y post operatorias.

El microscopio especular permite la observación del endotelio corneal "in vivo" y sin afectar al mismo. En él, se proyecta un haz de luz sobre la superficie corneal. De este haz, aproximadamente 0.02% de la luz se refleja en la interfase entre el endotelio y el humor acuoso, el resto de la luz es transmitida, y es esta luz reflejada la que forma la imagen endotelial. Sin embargo, las imágenes obtenidas, siendo tomadas "in vivo", con el movimiento inevitable del paciente y la baja intensidad luminosa del microscopio especular, tienen un alto grado de ruido y degradación.

Los parámetros de interés de las células del endotelio corneal son: el área celular, perímetro celular, diámetros mayores y menores, factor de forma, poligonalidad y datos estadísticos como varianzas y modas obtenidos de una muestra de células. La poligonalidad es uno de los parámetros de mayor interés. Un endotelio sano está compuesto uniformemente por células hexagonales ya que este arreglo permite un acomodo de células reduciendo espacios intercelulares y manteniendo el mínimo perímetro celular [1]. En casos de patología y de manera natural con la edad, aumenta el número de células no hexagonales. Se han propuesto varios métodos para la medición de la hexagonalidad [2][3].

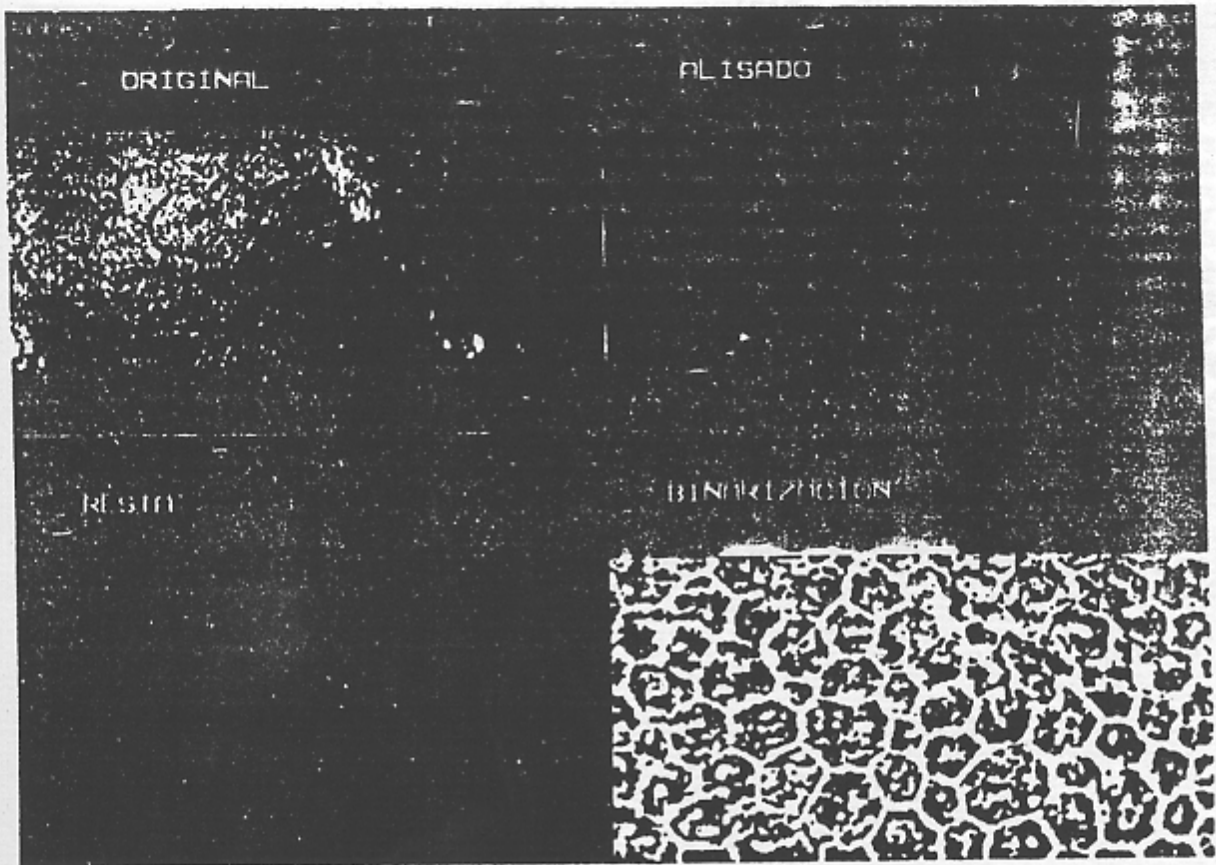


fig. 1

- a) Imagen original del endotelio corneal obtenida de un microscopio especular.
- b) Alisado de la imagen original mediante un promedio de 50 pixeles vecinos.
- c) Resta de las imágenes anteriores.
- d) Binarización de la resta.

OBJETIVO

El objetivo de este proyecto es, en una primera instancia, obtener la mejor segmentación posible de las imágenes originales con un mínimo de intervención humana. Posteriormente, hacer las mediciones de los parámetros comunmente requeridos en el análisis del endotelio corneal.

RESULTADOS

Inicialmente se capturan varias imágenes "in vivo" para seleccionar aquellas que presenten el mejor contraste y la menor degradación (fig 1 a). Posteriormente se genera una imagen mediante un alisado (de 50 pixeles vecinos) (fig 1 b) la cual se le resta a la original (fig 1 c). Este es un filtro "pasa-altas" (frecuencias) que compensa las diferencias de iluminación ya que los microscopios especulares siempre presentan un gradiente hacia la llamada región oscura. La imagen restante es binarizada (fig 1 d) y filtrada varias veces (del orden de 15 a 25) con un filtro mediana que elimina ruido de alta frecuencia (fig 2 a). En este momento se puede editar la imagen para cerrar contornos que hayan quedado abiertos. También se enmarca la imagen (fig 2 b).

La imagen restante es sometida a los siguientes procesos de morfometría matemática:

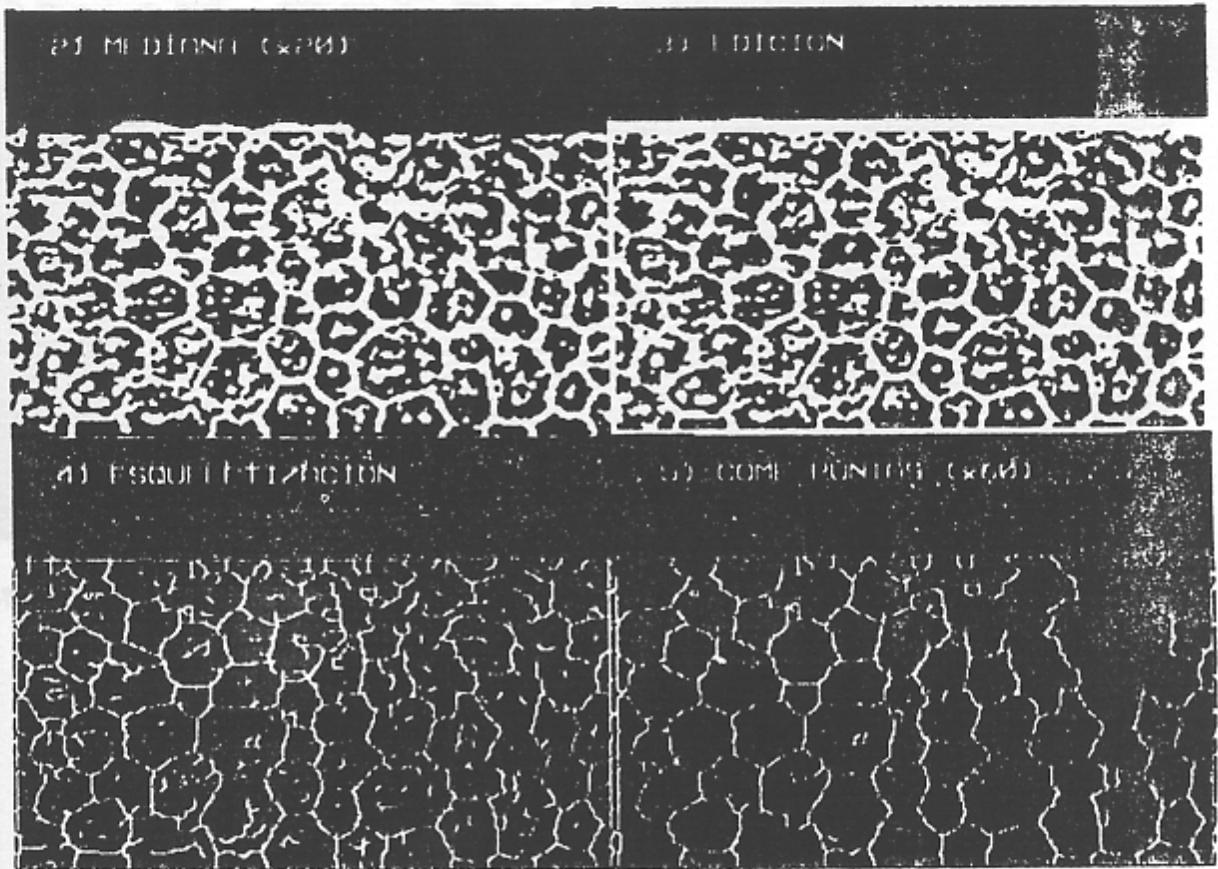


fig. 2.

- a) 20 aplicaciones de un filtro mediana a la imagen binarizada.
- b) Edición de la imagen: se unen contornos que hayan quedado abiertos y se agrega un marco.
- c) Esqueletización (método Zhang & Suen).
- d) Filtro "come puntas" para eliminar "hilos sueltos".

- Esqueletización. Mediante el método de Zhang y Suen [4], se obtiene una imagen binaria donde se reduce a grosor de un pixel todos los objetos (fig 2 c).
 - 'Come Puntas'. Todos las ramas que quedan con puntas (pixeles con solo un vecino en ocho-conexidad) son eliminadas de la imagen (fig 2 d).
 - Dilatación y Esqueletización. Esto elimina contornos pequeños que no corresponden a células (fig 3 a, b).
- El resultado de estas operaciones es una imagen binaria de los espacios intercelulares y es una muy buena aproximación a una segmentación ideal de las células (fig 3 d). De esta imagen se puede obtener una imagen de los vértices donde se encuentran tres células (fig 3 c y fig 4 a).

Generación de Contornos.

De la imagen final de los espacios intercelulares (fig 3 b), se pueden obtener los contornos de las células (fig 4 b). Esto es útil para obtener ciertos parámetros de las células como área, densidad celular, diámetros mayores y menores, etc. Sin embargo no es ideal para obtener la hexagonalidad de las células.

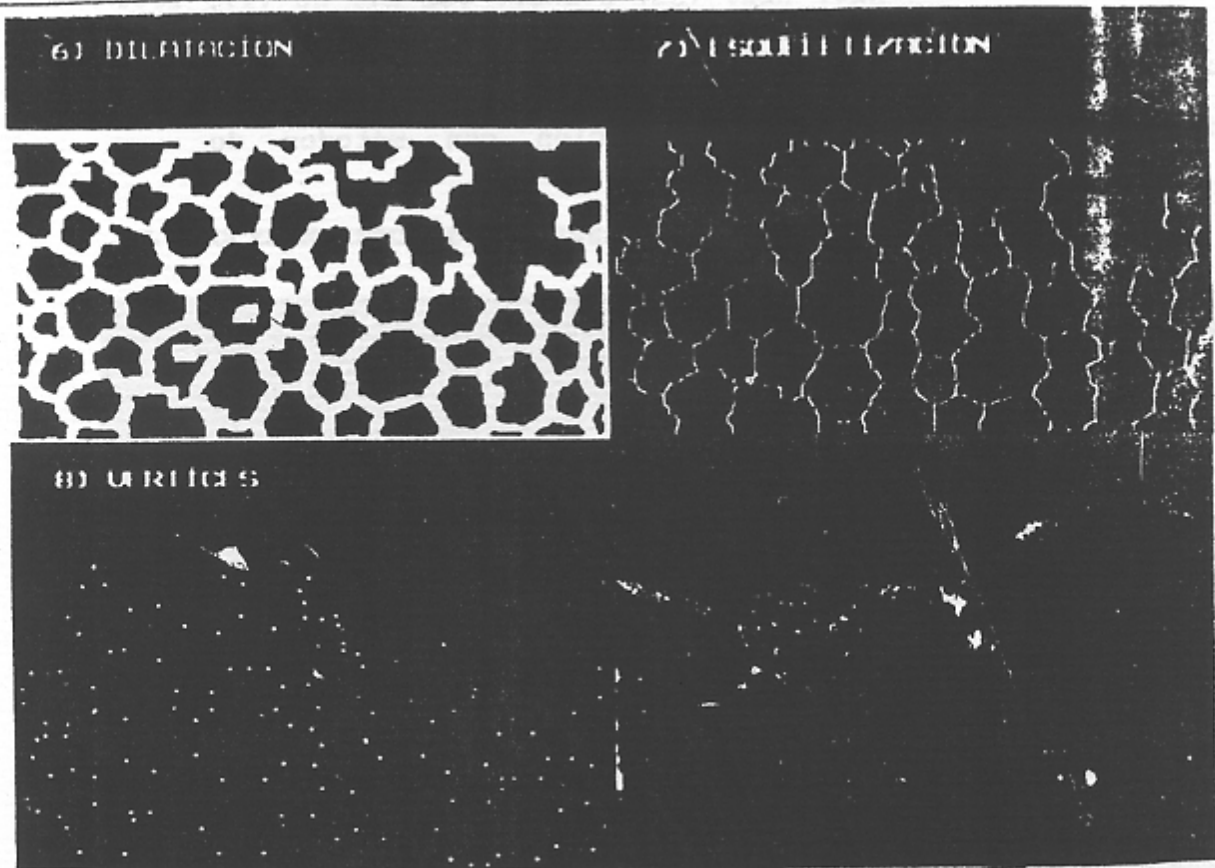
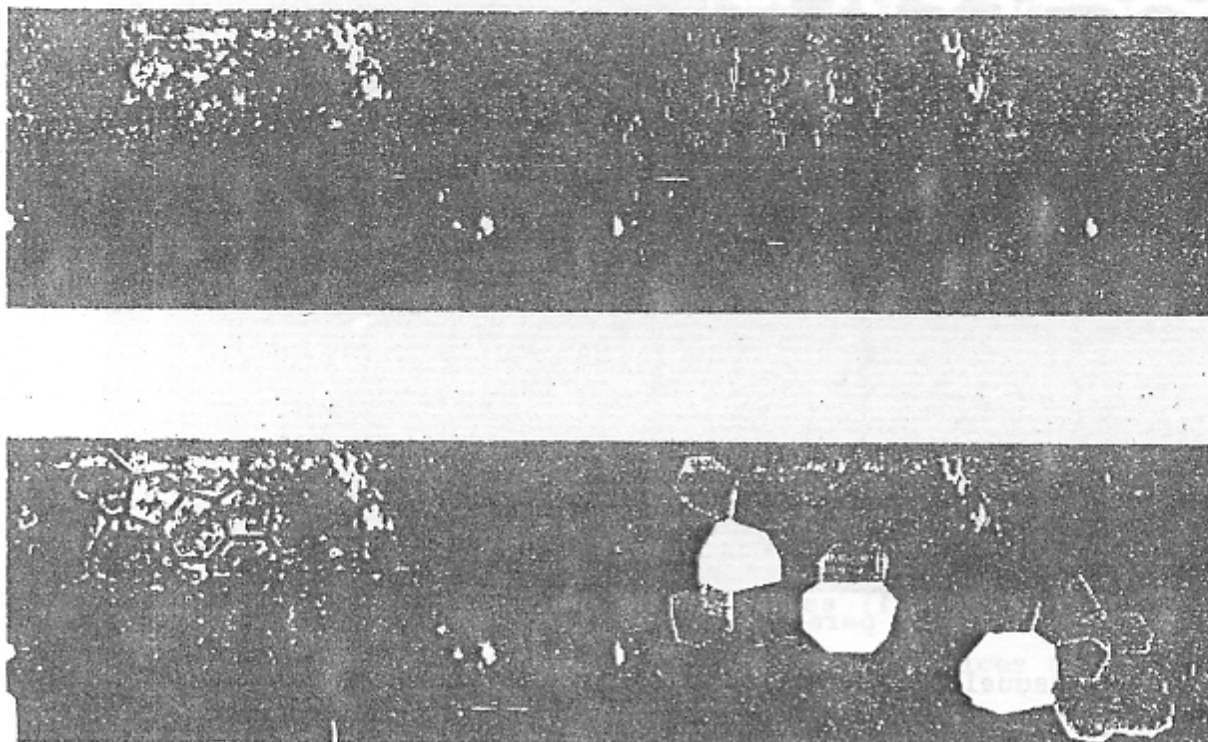


fig. 3. a) Dilatación para eliminar contornos pequeños.
 b) Esqueletización de la imagen anterior; segmentación final.
 c) Obtención de vértices.
 d) Imagen original menos la segmentación final.

CONCLUSIONES

Dado que uno de los objetivos principales de este proyecto es la determinación de la hexagonalidad de las células, gran parte de este trabajo se ha hecho con este fin en mente. La imagen de vértices (fig 4 a) es un paso hacia la creación de contornos de células a partir de los vértices. Hasta el momento, se hace la validación de dichos vértices manualmente para obtener una imagen sintética de las células (fig 4 c). De esta imagen es muy sencillo hacer la clasificación de la poligonalidad de las células según su número de vértices (fig 4 d). Para aumentar la

automatización del proceso, se están proponiendo varios métodos para efectuar esta validación con métodos de procesamiento digital de imágenes.



- a) Imagen original menos la imagen de vértices.
 b) Segmentación en contornos individuales hecha a partir de la imagen de segmentación final.
 c) Imagen sintética de contornos hecha a partir de la imagen de vértices.
 d) Clasificación de la imagen sintética en diferentes tipos de polígonos.

fig. 4.

[1] Olsen, T.: Variations in endothelial morphology of normal Corneas and after cataract extraction. *Acta Ophthalmologica* 57: 1014-1019, 1979.

[2] Nishi, Hanasaki: Automated Determination of Polygonality of Corneal Endothelial Cells. *Cornea* 8(1), 54-57, 1989.

[3] Hartmann, C.: Automated Morphometric Endothelial Analysis Combined With Video Specular Microscopy. *Cornea* 3: 155-167, 1985.

[4] Zhang, T.Y. and Suen, C.Y. [1984]. "A Fast Parallel Algorithm for Thinning Digital Patterns". *Comm. ACM*, vol. 27, no. 3, pp. 236-239.