

Evaluación Cuantitativa de la Influencia de los Espacios de Color para la Detección Automática de Células

Crespo C. ,Ochoa D.
Centro de Visión y Robótica, Facultad de Ingeniería en Electricidad y Computación
Escuela Superior Politécnica del Litoral
Km. 30.5 vía Perimetral, 09015863, Guayaquil, Ecuador
{cgrespo,dochoa}@fiec.espol.edu.ec

Resumen

En este artículo proponemos el estudio de los espacios de color en el marco de la segmentación automática de estructuras celulares. En contraste con estudios neuro-físicos orientados a describir la percepción humana del color nosotros desarrollamos un análisis cuantitativo tomando como referencia el resultado de algoritmos de segmentación y plantillas generadas manualmente. Los resultados obtenidos demuestran que el color tiene una influencia considerable sobre la capacidad de análisis de una imagen y que los espacios de color que además de separar la cromaticidad y luminancia procuran la normalización de las distancias entre colores proveen una mejor representación de la información presente en la imagen a diferencia de los espacios de color tales como el RGB y HSI que han dominado la literatura de procesamiento de imágenes biomédicas en el pasado.

Palabras Claves: Segmentación, Espacios de Color, Evaluación de rendimiento.

Abstract

In this paper we study color spaces in the framework of automatic segmentation of cellular structures. In contrast to neuro-physical studies focused on human perception of color we resort to a quantitative evaluation of such impact using as reference segmentation outputs and ground truth images. The results show that color representation has a considerable influence in the capabilities of such algorithms and color spaces that separate chromaticity and luminance components, and normalize color differences, provide a representation of image data better than color spaces such as RGB and HSI used extensively in the field of biomedical image processing in the past.

Keywords: Segmentation, Color Spaces, Performance Evaluation.

1. Introducción

Las primeras referencias a la aplicación de técnicas de análisis de imágenes microscópicas data de los años 50's cuando se propuso el uso de algoritmos diseñados en el área del procesamiento de señales para detectar células cancerígenas. El problema demostró ser de alta complejidad al requerir que diversos procesos cognitivos, que trabajan de forma simultánea en la visión humana, sean incorporados en un sistema de automático de análisis de imágenes.

Así la noción de técnicas generales capaces de trabajar de manera eficiente sobre diferentes tipos de imágenes, que predominó en etapas tempranas del desarrollo de la visión artificial, ha dado paso al convencimiento de que la correcta interpretación de una imagen requiere la inclusión de conocimiento

previo referente al contenido de la escena y las características del objeto de interés.

Esto ha dado paso al desarrollo de técnicas específicas, pero su incorporación en aplicaciones tecnológicas se ve limitado por la falta de evaluación cuantitativa de su rendimiento sobre una base común de imágenes [1], lo que impide que los resultados puedan ser replicados de manera adecuada. Esta subjetividad constituye actualmente uno de los mayores problemas para el desarrollo de sistemas de análisis de imágenes biomédicas [2].

En general un algoritmo de visión requiere representar la imagen de manera que permita definir claves cognitivas –continuidad, similitud, proximidad, etc. – sobre las cuales construir modelos de los objetos de interés. Si bien hay varios aspectos que podrían considerarse dentro de la representación de la imagen nos enfocamos en el color debido a que

los continuos avances en tinciones y marcadores moleculares utilizados en experimentos biológicos permiten establecer relaciones claras de correspondencia entre los colores y tonos de los píxeles presentes en una imagen y los objetos que componen la muestra.

A diferencia de los estudios neuro-físicos que evalúan como la percepción del color afecta la habilidad de los humanos para reconocer objetos en una escena [3], o aquellos que buscan el mejor grupo de parámetros para la segmentación de una imagen dada [4], nosotros investigamos como la representación del color afecta a los algoritmos de detección automática de células de manera cuantitativa con información pictórica común.

Los experimentos desarrollados se orientan a proveer a los investigadores con evidencia que justifique la selección de las mejores componentes de color para segmentación de células. Consideramos que este tipo de análisis es necesario antes de realizar cualquier tarea de reconocimiento de especímenes biológicos, en particular si se desea construir sistemas automáticos de detección de enfermedades basados en visión artificial.

Este artículo está organizado de la siguiente manera. En la sección 2 se explica en que consiste la segmentación de imágenes. Los espacios de color son presentados en la sección 3. Los experimentos realizados se detallan en la sección 4, los resultados en la sección 5 y finalmente las conclusiones y futuros trabajos se explican en la sección 6.

2. Segmentación de Imágenes

Segmentar es el proceso de dividir una imagen en regiones cuyos píxeles poseen atributos comunes. Idealmente todas las regiones encontradas tienen interpretación física y corresponden a los objetos de la escena. En el caso de imágenes biológicas estas regiones deberían coincidir con células, tejidos u órganos presentes en la muestra.

Los algoritmos de segmentación tratan de maximizar el número de píxeles asociados a objetos de interés y al mismo tiempo minimizar el número de aquellos que no lo están. Los algoritmos de segmentación se fundamentan en la aplicación de uno o más de los siguientes criterios:

Similitud, entre propiedades de píxeles por ejemplo: intensidad, color, textura, movimiento, etc.

Discontinuidad, entre píxeles de objetos diferentes, en particular aquellos que destacan del entorno con bordes bien definidos.

Conectividad, espacial entre píxeles que pertenecen al mismo objeto.

Entre aquellos algoritmos que emplean la similitud destaca por su simplicidad y poder de resolución la segmentación basada en umbralización, Fig. 1. Para un reporte exhaustivo de estas técnicas referimos al lector a [5].

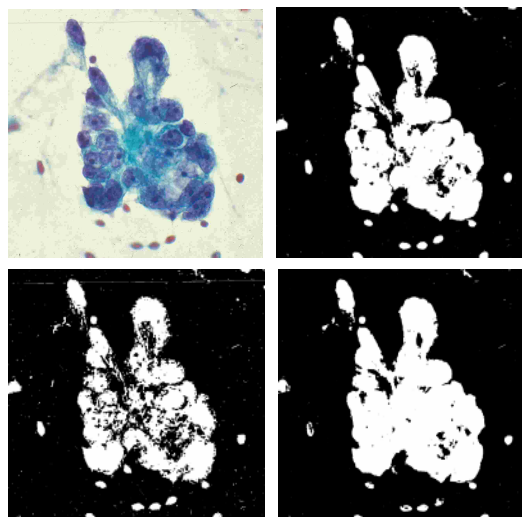


Figura 1. Resultados de segmentación de una imagen usando un umbral común sobre diferentes componentes de color.

Las discontinuidades son explotadas por ejemplo en algoritmos de detección de contornos. La detección se realiza seleccionando puntos de alta variación ya sea de intensidad o textura y enlazándolos en función de restricciones geométricas o espaciales a fin de generar contornos abiertos o cerrados [6].

La mayoría de métodos que aplican conectividad agrupan píxeles adyacentes a partir un conjunto de puntos iniciales mientras se mantengan algún criterio de homogeneidad. Los trabajos reportados en [7,8,9] muestran diferentes técnicas construidas sobre en este principio.

Independientemente de la técnica a usar, el resultado de la segmentación depende del grado en el cual la imagen a ser procesada permita derivar los tres criterios mencionados anteriormente. Una adecuada representación de la imagen procura que los píxeles que pertenezcan a una misma clase de objeto tengan valores similares y que la diferencia entre objetos de clases diferentes sea considerable.

Nuestros experimentos, desarrollados sobre imágenes biológicas con información cromática, se enfocan precisamente en estudiar el impacto de la representación del color en la segmentación de estructuras celulares. Para una mejor comprensión del problema, la siguiente sección describe los espacios de color comúnmente utilizados en el área de visión artificial.

3. Representación del Color

El color es ampliamente usado en el análisis de imágenes médicas y microscópicas [10] [11]. Las células, tejidos y órganos toman una coloración determinada dependiendo de la técnica de microscopia empleada. Esta información contextual es valiosa para distinguir las diferentes estructuras presentes en la muestra y en la práctica es utilizada por los cito-patólogos para el diagnóstico de las células.

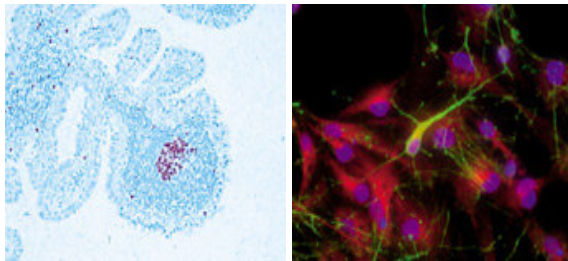


Figura 2. Ventajas del color para la visualización de estructuras celulares: tomadas en campo claro (izquierda), y con fluorescencia (derecha)

Matemáticamente, un espacio de color se define por una base de N componentes vectoriales cuya combinación -lineal o no- genera todos los posibles colores que pueden ser representados por ese espacio. De manera muy general los espacios de color se clasifican en: *modelos orientados a dispositivos* y *orientados a reproducir la percepción humana*. Los primeros están basados en la fisiología de la retina humana, y los otros fenómenos perceptuales tales como la luminosidad, el tono y la saturación.

Los modelos orientados a dispositivos han sido utilizados ampliamente en la literatura. El más conocido, el RGB, representa un color mediante la mezcla por adición de los tres colores de luz primarios: rojo (R), verde (G) y azul (B). Geométricamente el color está dado por la suma vectorial de sus componentes.

Aunque el espacio RGB es intuitivo presenta un serio inconveniente: sus tres componentes mezclan información de cromaticidad (color) y luminancia (intensidad). Para paliar este problema se propusieron los espacios YIQ y YUV que separan la luminancia Y y la cromaticidad: IQ y UV respectivamente y que son usados por el estándar NTSC de transmisión de televisión. A partir de la selección de colores primarios y del nivel de referencia, se puede derivar los valores de cada componente:

$$\begin{bmatrix} Y \\ U \\ V \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0.299 & 0.587 & 0.114 \\ 0.147 & -0.289 & 0.436 \\ 0.615 & -0.515 & -0.100 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} R \\ G \\ B \end{bmatrix} \text{ Eq. 1}$$

Entre los modelos orientados a reproducir la percepción humana destacan el HSI y el XYZ. El primero y sus derivados HSL, HSV y HSB se basan en el modo de percibir los colores que tenemos los humanos. Dicho sistema caracteriza el color en términos de tono o tinte (Hue), saturación e intensidad; componentes que se muestran favorables cuando el tono del color es importante para la segmentación. El espacio HSI puede relacionarse con el RGB a través de la siguiente transformación no lineal:

$$I = \frac{R+G+B}{3}, \quad H = \left(\frac{\sqrt{3}(G-B)}{(R-G)+(R-B)} \right), \text{ Eq. 2}$$

$$S = 1 - \frac{\min(R,G,B)}{I}$$

En el espacio XYZ cada una de sus componentes primarias de color fueron definidas experimentalmente por la Comisión Internationale de l'Éclairage CIE, basándose directamente en mediciones de cómo el ojo humano percibe los colores. Los espacios XyY , $L^* u^* v^*$ y $L^* a^* b^*$, derivados del XYZ, aíslan la componente de luminancia y además promueven que la sensación de diferencia percibida entre dos colores sea proporcional a la distancia euclidiana medida entre los puntos que representan esos dos colores en el espacio tridimensional.

$$\begin{bmatrix} X \\ Y \\ Z \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0.34 & 0.222 & 0.020 \\ 0.43 & 0.706 & 0.129 \\ 0.17 & 0.071 & 0.939 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} R \\ G \\ B \end{bmatrix} \text{ Eq. 3}$$

Dado que la iluminación y preparación de la muestra son factores que afectan la calidad de las imágenes microscópicas proponemos evaluar que componentes de color proveen una segmentación estable en función del resultado de la segmentación, pues al final de cuentas es esta información la que luego será analizada para la caracterización y clasificación de los objetos encontrados. En la siguiente sección se detallan en diseño de los experimentos realizados y sus resultados.

4. Experimentos

A fin de llevar a cabo nuestros experimentos se construyó una herramienta para la segmentación automática y semiautomática de imágenes. Su aplicación hizo posible definir los objetos de la muestra, extraer su superficie y asignarles una categoría, Fig. 3. Se definieron dos categorías: células y no-células que se representaron usando en plantillas binarias.

En total 100 células fueron utilizadas en nuestros experimentos de un banco de imágenes de muestras cérvico uterinas. Las imágenes fueron digitalizadas usando un microscopio Axioskop2 plus equipado con una cámara digital AxioCam Mrc5 de alta definición empleando la técnica de campo claro.

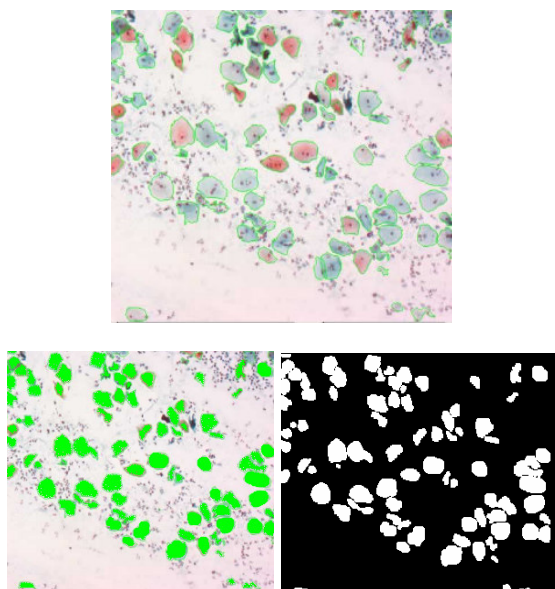


Figura 3. Generación de la plantilla usando herramienta de segmentación manual. La imagen original (arriba). En verde el contorno y superficies de células, y en blanco las células segmentadas (abajo).

Dos algoritmos de segmentación: Watershed y Meanshift ampliamente usados en imágenes médicas fueron utilizados. El primero prioriza la conectividad espacial de píxeles y el segundo la similitud entre píxeles de objetos de una misma clase.

Watershed se basa en morfología matemática para el crecimiento de regiones. A fin de evitar la sobresegmentación se aplicó la técnica de marcadores y en vez de procesar la imagen original se utilizó el gradiente. Los marcadores se definieron superponiendo una máscara binaria correspondiente a los mínimos locales y el gradiente aplicando el

filtro de Sobel sobre cada componente normalizada y tomando el valor promedio.

Meanshift, busca las modas en histogramas multimodales y es especialmente útil cuando los picos y valles puede relacionarse con la presencia de objetos diferentes en la escena [12]. A fin de reducir la dimensionalidad de los datos se utilizó el análisis de componentes principales (PCA) dejando solo los datos correspondientes al mayor de los eigenvalores calculados para generar el histograma. Además se utilizó una ventana de tamaño proporcional al mínimo número en píxeles de una célula.

Cada técnica de segmentación fue aplicada sobre los espacios de color: RGB, Lab, HSL, XYZ, NTSC, XyY, Luv, Ycbr, CMY. Los experimentos se repitieron usando las componentes de cada espacio de manera individual y combinada.

A fin de reportar de manera cuantitativa nuestros hallazgos empleamos la metodología de ROC (Receiver Operating Curve) sobre los resultados de segmentación de las 32 representaciones de color correspondientes a los 9 espacios de color y sus respectivas componentes. Se definió como detección verdadera a aquel objeto segmentado cuyos píxeles coincidan en un 90% o más con un objeto presente en la plantilla de la clase célula y como detección falsa aquellos objetos segmentados que:

1. Cubran parcial o totalmente objetos en la plantilla no-células.
2. Cubran un objeto de la plantilla células en una porción inferior al 90%.
3. Cubran más de un objeto en la plantilla células a la vez.

Los datos obtenidos para detecciones verdaderas y falsas sirvieron para elaborar la curva ROC, la distancia normalizada al punto óptimo fue utilizada como métrica. Dado que de forma nativa las imágenes se cargan en formato RGB los tiempos de ejecución de cada experimento varían dependiendo del espacio del color escogido pues las transformaciones, en particular las no lineales, consumen mayor tiempo del procesador.

5. Resultados

Los resultados se muestran en las tablas 1 y 2 para ambas técnicas de segmentación y espacios/componentes de color con distancia al punto óptimo menor a 0,8. En ambas tablas se observa que los espacios perceptuales proveen una mejor detección que aquellos orientados a dispositivos independientemente del algoritmo de segmentación utilizado.

Tabla 1. Distancia ROC usando Watershed

XYZ_x	Luv	RGB_r	XyY	xyY_Y	Luv_L
0.2898	0.2937	0.3466	0.3555	0.3931	0.3931
XYZ_y	XYZ	Lab	ycbcr_yc	Lab_L	XYZ_z
0.3931	0.4032	0.4552	0.4696	0.4707	0.4721
NTSC_nt	RGB	RGB_g	NTSC	hsl_l	Hsl
0.4805	0.4860	0.4930	0.4935	0.4952	0.5258
Hsl_h	ycbcr	ycbcr_cr	RGB_b	NTSC_s	NTSC_c
0.5285	0.5584	0.5676	0.5757	0.6003	0.6028

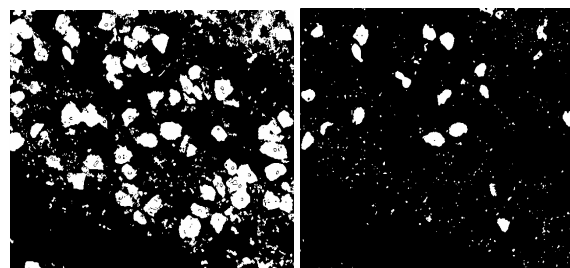
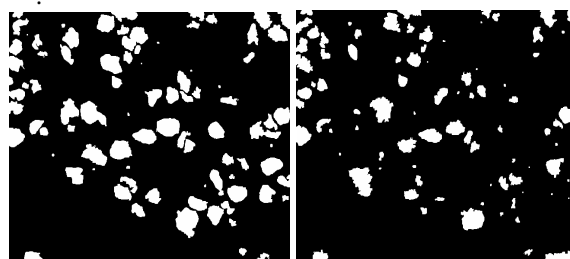
Entre ellos los espacios que normalizan la diferencia entre colores concentran los mejores resultados. Se puede deducir que al reducir la variación de valores de cromaticidad en los píxeles correspondientes a la superficie de la célula ambos algoritmos mejoran sus resultados. En el caso de Watershed las diferencias entre píxeles adyacentes es menor lo que favorece su agregación y para Meanshift la cantidad de modas del histograma se reduce lo que facilita su detección.

Tabla 2. Distancia ROC usando Meanshift

Luv_L	XyY_Y	Lab	Ycbcr	XyY	RGB_r
0.1411	0.1411	0.1713	0.1736	0.1902	0.1905
NTSC	Luv	XYZ	RGB	NTSC_NT	XYZ_X
0.1937	0.2128	0.2249	0.3680	0.3908	0.4243
XYZ_Y	HSL	HSL_H	Lab_L	ycbcr_yc	RGB_g
0.4517	0.4574	0.4724	0.4851	0.4948	0.5032
RGB_b	HSL_S	HSL_L	XYZ_Z	Lab_a	ycbcr_cr
0.5920	0.6260	0.6419	0.6635	0.7709	0.7754

Considerando los algoritmos, con Meanshift la segmentación es un tanto ruidosa, esto se debe a la naturaleza global de esta técnica. Sin embargo podemos notar que los píxeles seleccionados guardan relación espacial con la forma de las células y la presencia de agujeros solo ocurre en la cercanía del núcleo cuyo color es mucho más oscuro que el resto de la célula.

Watershed por otro lado sí provee bordes continuos pero detecta un menor número de células debido principalmente a que los bordes son débiles en algunas regiones y los espacios de color estudiados no pueden realzarlos lo suficiente para garantizar que el objeto segmentado permanezca dentro de los límites de la célula.

**Figura 4.** Resultados de la segmentación automática usando Meanshift: el mejor (izquierda) y peor (derecha) espacio de color para.**Figura 5.** Resultados de la segmentación automática usando Watershed: el mejor (izquierda) y peor (derecha)

6. Conclusiones

Nuestros experimentos demuestran que los espacios de color orientados a reproducir la percepción humana (XYZ, XyY, Luv) proveen la mejor segmentación de células. Este resultado se contrapone al uso de los espacios RGB y el HSI comúnmente referidos en artículos de análisis de imágenes biomédicas.

Dado que nuestros experimentos se centraron solamente en dos clases de objetos y solo las células contenían la mayor información de color y por ende eran los objetos más destacados de la imagen, la luminancia resultó ser la mejor componente individual para la mayoría de espacios. Sin embargo solo cuando información de cromaticidad es incluida los resultados mejoran lo cual es indicativo de la influencia del color para una segmentación eficiente.

El componente R (red) del espacio RGB demostró ser la más confiable esto se explica por que los tonos rojo y púrpura que toman las células lo hacen una buena medida de la variación luminancia y provee una mejor detección que la combinación de las tres componentes. Sin embargo esto ocurre por el tipo de tinción utilizada, ciertamente es mejor trabajar con un espacio de color que mantenga la luminancia invariable con respecto al color de las células.

Los resultados obtenidos nos demuestran que hay una estrecha relación entre los espacios de color y el resultado de la segmentación de células. Los

espacios perceptuales favorecen la segmentación de células aún en presencia de variaciones en la tinción e iluminación.

Si bien estos espacios de color requieren mayor tiempo de procesamiento lo que puede ser una limitante en aplicaciones que corren en tiempo real en el caso de análisis fuera de línea de imágenes biológicas debería considerarse su aplicación. En futuros trabajos realizaremos experimentos generando espacios de color híbridos en los cuales sus componentes pueden pertenecer a espacios de color diferentes.

7. Agradecimientos

Este trabajo fue parcialmente soportado por el proyecto VLIR-ESPOL componente 8. Las muestras utilizadas para nuestros experimentos fueron provistas amablemente por la Asociación Pro Bienestar de la Familia Ecuatoriana (APROFE).

8. Referencias

- [1] Bengtsson E., "Computerized Cell Image Analysis: Past, Present, and Future" Lecture Notes in Computer Science, 2749, 2003, pp. 395-407.
- [2] Zhang H., "A Co-evaluation Framework for Improving Segmentation Evaluation", IS&T/SPIE's Dense and Security Symposium Signal Processing, Sensor Fusion and Target Recognition, 5809, 2005.
- [3] Green, D.M. Swets, J.A., "Signal detection theory and psychophysics." New York: John Wiley & Sons, 1966.
- [4] Cho K., Meer P., Cabrera J., "Performance Assessment through Bootstrap," Proc. IEEE, 19, pp. 1185-1198, 1997.
- [5] Sankur, Sezgin, "Survey over image thresholding techniques and quantitative performance evaluation", Journal of Electronic Imaging, 13, pp 146-165, 2004.
- [6] Sappa A., Vintimilla B., "Edge point linking by means of global and local schemes", IEEE International Conference on Signal-Image Technology and Internet-based Systems, pp. 551 - 560, 2006.
- [7] Varela C., Timp S., Karssemeijer N., "Use of border information in the classification of mammographic masses". Phys Med Biol, 51, pp. 425-441, 2006.
- [8] Bouman, C.A., Shapiro, M. "A Multiscale Random Field Model for Bayesian Image

Segmentation". IEEE Transactions on Image Processing, 3, pp. 162-177, 1989.

- [9] Beucher, Meyer. "The Morphological Approach to Segmentation: the Watershed Transformation" en "Mathematical Morphology in Image Processing", E. Dougherty De., Marcel Dekker: New York, 1992.
- [10] Keselman, Y., Micheli-Tzanakou, E., "Extraction and characterization of regions of interest in biomedical images", Information Technology Applications in Biomedicine, pp. 87-90, 1998.
- [11] Cheng H.D., "Color image segmentation: advances and prospects", Pattern Recognition, 34, pp. 2259-2281, 2001.
- [12] Comaniciu D., Meer P.: Robust Analysis of Feature Spaces: Color Image Segmentation, IEEE Conf. Computer Vision and Pattern Recognition, pp. 750-755, 1997

9. Anexos

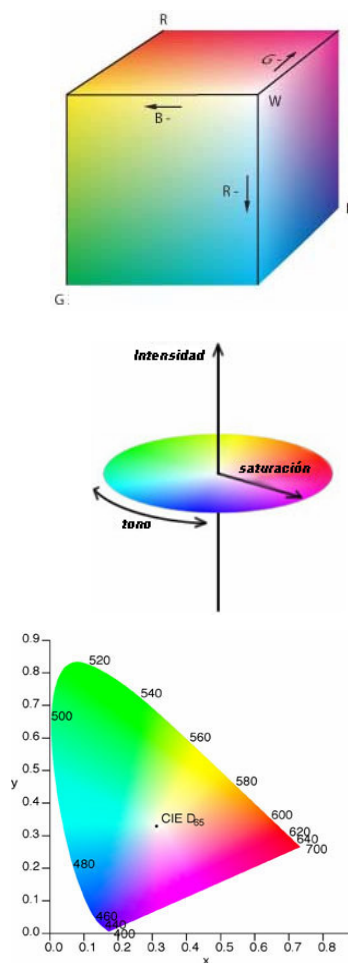


Figura 6. Espacio RGB (arriba), HSI para $l=0$ (centro), XYZ plano XY para $Z=0.65$ (abajo).