

**DIAGNOSIS NIC 2: SOFTWARE PARA LA CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO
DE LAS CÉLULAS ESCAMOSAS DE CITOLOGÍAS CÉRVICO UTERINAS
QUE PRESENTAN CAMBIOS DE NEOPLASIA INTRAEPITELIAL
CERVICAL II (NIC II), POR MEDIO DE TRATAMIENTO
DIGITAL DE IMÁGENES**

DONADA CONEO PLATA

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICO-MECÁNICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA DE SISTEMAS E INFORMÁTICA
BUCARAMANGA**

2008

**DIAGNOSIS NIC 2: SOFTWARE PARA LA CONTRIBUCIÓN AL
DIAGNÓSTICO EN CITOLOGÍA CERVICO UTERINAS DE CÉLULAS
ESCAMOSAS QUE PRESENTAN CAMBIOS DE NEOPLASIA
INTRAEPITELIAL CERVICAL II (NIC II), POR MEDIO DE
TRATAMIENTO DIGITAL DE IMAGENES.**

DONADA CONEO PLATA

**Trabajo de Grado para Optar al Título de
Ingeniera de Sistemas**

Director:

**Alfonso Mendoza Castellanos
Bachelor of Science DEA.**

Codirector:

**Olga Mercedes Álvarez Ojeda MD.
Especialista en Patología**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICO MECÁNICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA DE SISTEMAS E INFORMÁTICA
BUCARAMANGA**

2008

AGRADECIMIENTOS

A todo el grupo de Ingeniería Biomédica (GIIB), por el aporte de cada una de las personas constituyentes. Especialmente a Ivonne, Ruddyguer y Sofia que fueron mi gran apoyo y soporte en este proyecto.

Al profesor Mendoza por su gran paciencia, sus consejos y apoyo incondicionales.

Al Dr. Ernesto García por la iniciativa y apoyo.

A la Dra. Olga Mercedes Álvarez por su dedicación y acompañamiento invaluable.

A mis padres y hermana por ser la base de mi vida.

A Oscar Gómez y Julio Guevara por brindarme su amistad, fortaleza y por creer en mí.

A Dios porque sin él nada de esto hubiera sido posible.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCION	17
1. PRESENTACION DEL PROYECTO	20
1.1 Objetivos	20
1.1.1 Objetivo General	20
1.1.2 Objetivos Específicos	20
1.2 Definición del Problema	21
1.3 Impacto Esperado	25
1,4 Viabilidad	26
2. MARCO TEÓRICO	27
2.1 Morfología Normal del Cérvix o Cuello Uterino	27
2.2 Partes del Cérvix	27
2.2.1 Exocérvix o ectocérvix	28
2.2.2 Endocérvix	28
2.2.3 Orificio Cervical externo	29
2.2.4 Unión Escamo-socilíndrica	29
2.3 Morfología del Carcinoma del Cuello Uterino	29
2.4 Lesiones Precursoras del Carcinoma del Cuello Uterino	31
2.4.1 Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC)	31
2.4.1.1 Terminología	32
2.4.1.2 Neoplasia Intraepitelial de tipo 2 (NIC2)	38
2.4.2 Factores de Riesgo	38
2.4.3 Infección por Virus de Papiloma Humano (HPV)	39
2.5 Cuadro Histológico de la Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC)	40
2.5.1 Anormalidades del Núcleo	42
2.6 Diagnóstico	42

	Pág.
2.6.1 Citología Exfoliativa	43
2.6.1.1 Nomenclatura en citología Cervical	45
2.6.2 Colposcopia	46
2.6.3 Tinciones	46
2.6.4 Biopsia	47
2.6.5 Conización	47
2.7 Tratamiento	48
2.7.1 Observación	48
2.7.2 Métodos conservadores	49
2.7.3 Técnicas conservadoras	49
2.7.3.1 Crioterapia	50
2.7.3.2 Electrocauterización	51
2.7.3.3 Laser de CO2	51
2.7.3.4 Asa de LEEP	52
2.7.4 Seguimiento de Métodos Conservadores	52
2.7.5 Métodos Quirúrgicos	52
2.7.5.1 Conización	53
2.7.5.2 Histerectomía	54
2.7.6 Seguimiento de Métodos Quirúrgicos	54
2.8 Cáncer Microinvasor	55
2.9 La Citología	56
2.9.1 Obtención de la Muestra	57
2.9.2 Frotis Adecuado y el problema de la Negatividad Falsa	58
2.9.3 Frotis Normal	60
2.9.3.1 Criterios Generales de Identificación	63
2.9.3.1.1 Criterio General para la identificación de Células Basales	63
2.9.3.1.2 Criterio General para la identificación de Células Intermedias	64

	Pág.
2.9.3.1.3 Criterio General para la identificación de Células Superficiales	64
2.9.4 Frotis Anormal	65
2.10 Dificultades en el Diagnóstico Citológico	66
2.11 Errores de la Citología Cervicovaginal	68
2.12 Criterios de Malignidad	69
2.12.1 Aumento de la Relación Nuclear- Citoplasmática	70
2.12.2 Hiperchromatismo del Núcleo	70
2.12.3 Aglomeración Granular gruesa de Cromatina	71
2.12.4 Irregularidad y engrosamiento del Borde Nuclear	71
2.12.5 Aumento del tamaño	72
2.12.6 Multinucleación y Multilobulación	72
2.12.7 Aglomeración celular con Pleomorfismo	73
2.13 Clasificación de la lesión	73
2.14 Resultados Anormales	74
3. TRATAMIENTO DIGITAL DE IMÁGENES	78
3.1 Fundamentos	78
3.2 Conceptos Básicos	82
3.2.1 Definición de Imagen	82
3.2.2 Definición de Pixel	83
3.2.3 Color	87
3.2.4 Modelos o Espacios de Color	90
3.2.4.1 Color RGB	91
3.2.4.2 Color L*a*b	92
3.3 Etapas del Tratamiento Digital de Imágenes	93
3.3.1 Adquisición de Imágenes	93
3.3.2 Pre-procesamiento	94
3.3.3 Segmentación	96
3.3.4 Representación y Descripción	99

	Pág.
3.2.5 Reconocimiento e interpretación	101
4. DESARROLLO DEL MODELO COMPUTACIONAL	102
4.1 Metodología	102
4.2 Adquisición	105
4.3 Preprocesamiento	107
4.3.1 Transformaciones de Color	108
4.4 Segmentación	116
4.4.1 Algoritmos de Segmentación	118
4.4.2 Segmentación del Núcleo y del Citoplasma	119
4.4.3 Umbralización	120
4.4.3.1 Método de Pun-Kapur	120
4.4.3.2 Método de Otsu	122
4.5 Descriptores	125
4.6 Reconocimiento e Interpretación	127
4.7 Red Neuronal	128
4.8 Base de Datos	132
5. MODELO COMPUTACIONAL	135
6. RESULTADOS	138
7. CONCLUSIONES	139
8. RECOMENDACIONES	141
9. BIBLIOGRAFIA	142

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Fotografía de Cérvix Normal	27
Figura 2. Partes del Cérvix	28
Figura 3. Corte del Cuello Uterino	31
Figura 4. Esquema de las lesiones precursoras del carcinoma escamoso invasor del cuello uterin	35
Figura 5. Nomenclatura en Citología Cervical	45
Figura 6. Cuadro comparativo de ventajas y desventajas de la Crioterapia	50
Figura 7. Cuadro comparativo de ventajas y desventajas de la Crioterapia	51
Figura 8. (a) Células de citología Normal Células Anormales (b) Displasia Moderada NICII	56
Figura 9. Frotis del Cuello Uterino	57
Figura 10. Célula escamosa Superficial	61
Figura 11. Célula escamosa Intermedia	62
Figura 12. Célula escamosa Parabasal	62
Figura 13. Rasgos distintivos de malignidad	69
Figura 14. Alteraciones celulares registradas por el sistema Bethesda	77
Figura 15. Cuadro comparativo de los sistemas de Clasificación Citológica	77
Figura 16. Proyección sobre el plano imagen	83
Figura 17. Imagen RGB y Monocromática	85
Figura 18. Imágenes con diferentes niveles de gris y de pixeles	87
Figura 19. Espacio de Colores RGB	87
Figura 20. (a) Imagen en Color (b) Componente roja (c) Componente verde (d) Componente azul	88

	Pág.
Figura 21. Imagen de colores RGB	91
Figura 22. Espacio de color L*a*b	92
Figura 23. Etapas de un sistema de visión computacional	101
Figura 24. Diagrama de casos de uso	104
Figura 25. Diagrama del modelo de Análisis	105
Figura 26. Células tratadas Individualmente	106
Figura 27. Células tratadas en Grupo	107
Figura 28. Imagen Original con 7 tipos de Transformadas de Color	115
Figura 29. Imágenes con el área del Citoplasma seleccionada	117
Figura 30. Imágenes con el área del Núcleo seleccionada	118
Figura 31. Núcleo segmentado con el método de Pun-kapur	122
Figura 32. Núcleo segmentado con el método de Otsu	124
Figura 33. Datos del Núcleo para la Red Neuronal	130
Figura 34. Datos de Núcleos-Citoplasma para la Red Neuronal	131
Figura 35. Tablas de la Base de Datos	134
Figura 36. Diagrama del Modelo Computacional	137

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A. Manual de Usuario	147
Anexo B. Requerimientos del Sistema	164

GLOSARIO

BINARIZACIÓN: Procedimiento para convertir una imagen que ese encuentra en formato de color verdadero, o escala de grises, a un formato de dos colores (Blanco y Negro).

BIOPSIA: Es procedimiento diagnóstico que consiste en la extracción de una muestra de tejido obtenida por medio de métodos cruentos para examinarla al microscopio. Esta muestra se envía al laboratorio, donde se corta en secciones y se trata con un tinte para que las células se puedan reconocer más fácilmente. Un patólogo, examina la muestra en el microscopio.

CARCINOMA: Cualquier tipo de cáncer que se forma en las células epiteliales, maligno por definición.

CÉLULAS ESCAMOSAS (también llamadas queratinocitos): Son un tipo principal de células de la epidermis, la capa externa de la piel.

CITOLOGÍA: Es el estudio de las células individuales.

CONTRASTE: Diferencia que existe entre claros y oscuros.

CROMATINA: Sustancia contenida en unos filamentos que son susceptibles de cromatina está más condensada.

DISPLASIA: Proliferación atípica de células aproximadamente, puede considerarse como una categoría intermedia entre hiperplasia y neoplasia su mejor uso es término para describir un fenómeno en el que el epitelio prolifera y exhibe el aspecto microscópico de tejido neoplásico pero, de otro modo, tiende a “portarse bien” y continúa revistiendo superficies corporales sin de hecho invadirlas, como sería el caso de una verdadera neoplasia maligna puede ser conveniente (aunque no totalmente exacto) considerar a la displasia como un “precáncer” o un cáncer incipiente.

FIRMA DE NÚCLEO: Función unidimensional del contorno nuclear.

FUNCIÓN DE TRANSFERENCIA: Máscara o filtro en el dominio frecuencial.

GRUMOSIDAD: Alteración en la distribución de la cromatina.

HIPERCROMACIA: Abundancia de cromatina en una célula. En imágenes digitales se manifiesta con bajo nivel de color.

HISTERECTOMÍA: Extirpación del útero por vía abdominal o vaginal.

INTENSIDAD O LUMINANCIA: Cantidad de luz incidente procedente de la fuente sobre la escena contemplada, multiplicada por el coeficiente de luz reflejada por los objetos de la escena

METAPLASIA: El fenómeno por el cual una clase de tejido es reemplazado por otro de una clase diferente.

NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL: Crecimiento de células anormales en la superficie de cérvix. Se pueden usar los números del I al III para describir que tanto del cérvix contiene células anormales.

NIC2: Afección por la cual células moderadamente anormales crecen en la capa delgada de tejido que cubre el cuello uterino. Estas células anormales no son malignas (cancerosas), pero pueden convertirse en cáncer. También se llama neoplasia intraepitelial cervical escamosa 2.

PÍXEL (PICTURE ELEMENT): Cada elemento de la matriz de una imagen.

PRUEBA DE PAPANICOLAOU: Se realiza para realizar el diagnóstico de cáncer cérvicouterino. Esta prueba es un examen citológico en que se toman muestras de células epiteliales, en la zona de transición, del cuello uterino, en busca de atipias celulares que orienten (no diagnostiquen) a la presencia **de una posible neoplasia de cuello uterino.**

RANGO DINÁMICO: Se refiere a los valores entre los cuales se encuentra la intensidad; es decir, al espacio del espectro [0, 255].

RELACIÓN NÚCLEO/CITOPLASMA: Relación entre área, perímetro, eje mayor y eje menor de núcleo y citoplasma.

RESOLUCIÓN: Grado de detalle discernible de una imagen.

SISTEMA BETHESDA: Sistema para la clasificación de la citología cervicouterina.

VECINDAD: Es algún juego de píxeles, definidos por sus posiciones en relación con el píxel de interés.

RESUMEN

TITULO DIAGNOSIS NIC II. CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO DE LAS CÉLULAS ESCAMOSAS DE CITOLOGÍAS CÉRVICO UTERINAS QUE PRESENTAN CAMBIOS DE NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL II (NIC II), POR MEDIO DE TRATAMIENTO DIGITAL DE IMÁGENES.*.

Autor:

Donaida Coneo Plata**

Palabras Claves: Tratamiento Digital de Imágenes, Transformaciones de color, Neoplasia Intraepitelial Cervical, Morfología Matemática, Redes Neuronales, Descriptores, Citología Cervicouterina, Papanicolaou.

Descripción:

La incidencia de cáncer de cuello uterino en la población colombiana ha ido en aumento a pesar de los últimos descubrimientos científicos para el control y tratamiento de la misma. Una de las razones principales del desarrollo de este proyecto es contribuir al control y detección temprana de esta enfermedad.

Los cánceres cervicouterinos invasores de células escamosas vienen precedidos por una larga fase de enfermedades preinvasoras, denominadas colectivamente Neoplasia Intraepitelial cervical (NIC). La NIC se clasifica en grados 1, 2 y 3 según la proporción del espesor epitelial que presenta células maduras y diferenciadas. La NIC puede detectarse por examen microscópico de las células cervicales en un frotis teñido por la técnica de Papanicolaou. En estas preparaciones citológicas, se evalúan los cambios de cada célula para el diagnóstico y la clasificación de NIC. En cambio, el examen histológico de los tejidos permite examinar otras características. Evaluar citológicamente la NIC basándose en los cambios nucleares y citoplasmáticos suele ser muy difícil.

Para ello el Grupo de Investigación de Ingeniería Biomédica (GIIB) con el apoyo conjunto del Departamento de Patología de la Universidad Industrial de Santander (UIS), propone una serie de investigaciones basadas en el desarrollo de software por medio del tratamiento digital de imágenes, para ayudar a la ciencia de la medicina a la identificación oportuna de lesiones preneoplásicas y neoplásicas del cuello uterino, dentro de las que se encuentra Neoplasia Intraepitelial Cervical (NICII).

En base a esta necesidad ha sido desarrollada la herramienta denominada DIAGNOSIS NICII, la cual fue diseñada e implementada en MATLAB 7.1 bajo un Proceso Unificado (RUP), empleando técnicas del tratamiento digital de imágenes como transformaciones de color, morfología matemática, métodos de umbralización, descriptores de contorno, una red

* Trabajo de Grado

** Facultad de Ingeniería Físico Mecánicas. Escuela de Ingeniería de Sistemas.
Director: Alfonso Mendoza Castellanos. Codirectora: Olga Mercedes Álvarez.

neuronal y una base de datos implementada en MYSQL donde se almacenará toda la información clínica y los resultados de los análisis.

ABSTRACT

TITLE DIGNOSIS CIN II. Contribution to the study of scamous cells from cervical uterine cytology that presents changes of cervical intraepithelial neoplasia II (CIN II), through the digital treatment of images ^{1*}

Authors:

Donaida Coneo **

Key Words: Digital treatment of images, Color Transformations, Cervical Intraepithelial Neoplasia, Mathematic morphologic, Neuronal networks, Descriptors, Cervical uterine cytology, Papanicolau.

Description:

The incidence of uterine neck cancer in the Colombian population has gone in increase even though of the last scientific discoveries to control and treat it. One of the main reasons to develop this project is to contribute to the early control and detection of this illness.

The scamous cells' cervical uterine invaders are preceded from a long phase of pre-invader illnesses, called collectively Cervical Intraepithelial Neoplasia (CIN). The CIN is classified in 1,2 and 3 grades, according to the proportion of the epithelial thickness that presents mature and differentiated cells. The CIN can detect by microscopic exam of the cervical cells in a stained smear by the Papanicolaou technique. In this cytological preparations, it is evaluated the changes of each cell for the diagnostic and classification of CIN. Instead, the histological exam of tissues allows examining other characteristics. To evaluate cytologically the CIN based on the nuclear y cytoplasm changes uses to be very difficult.

For that the Biomedic Engineering Investigation Group (BEIG) with the support of the Pathologic Department of the Industrial University of Santander (IUS), proposes several investigations based on the software development through the digital image treatment, to help medicine science in the timely identification of pre-neoplastic injuries and uterine neck neoplastic, between the ones that CIN II is found.

Based on this need has been developed a toll called DIAGNOSIS NIC II, which was designed and implemented in MATLAB 7.1 under and Unified Process (RUP), using techniques of digital images treatment as color transformation, mathematic morphologic, thresholding of methods, contour descriptors, a neuronal network and a data base implemented in MYSQL where all clinic information and the results of analysis are stored.

It is recommended the coupling of this software with others that uses diagnostics of the same area in different injuries, some additional tests with a higher level of images for a better training of the neuronal network.

* Project degree

** Physical Mechanic Engineering School. Computer Science Engineering School.
Director: Alfonso Mendoza Castellanos. Codirectora: Olga Mercedes Álvarez.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de este proyecto se convierte en un gran apoyo a la ciencia de la medicina, ya que se basa en la creación de un software que permite hacer mediciones y extraer información de las características correspondientes a células de citologías cervicouterinas para clasificarlas posteriormente dentro de los parámetros que identifican Neoplasia Intraepitelial Cervical (NICII).

Uno de los principales objetivos de este software es ayudar al patólogo a la Identificación oportuna de lesiones preneoplásicas y neoplásicas del cuello uterino, en este caso de NICII, para que de igual manera pueda orientar a las mujeres afectadas hacia los servicios de diagnóstico definitivo y definir de forma adecuada y oportuna el tratamiento, tendiente a incrementar las posibilidades de curación y el tiempo de sobrevivencia.

La neoplasia intraepitelial cervical (NIC) es una condición anormal que se puede detectar con el Papanicolaou y otros exámenes cervicouterinos. La NIC es el crecimiento de células anormales en el revestimiento del cuello uterino o cérvix. Aunque la NIC no es un estado canceroso, sí tiene la posibilidad de progresar a un cáncer si no se trata adecuadamente. Hay tres etapas (o grados) de NIC: NIC 1, NIC 2 y NIC 3. Estas etapas se definen de acuerdo a cuan anormal aparecen los cambios en las células: leve, moderado y alto. El riesgo de desarrollar cáncer aumenta con cada grado de NIC. Las lesiones cervicales se tratan de acuerdo al grado de severidad. Las lesiones de NIC 1 se pueden extirpar o se pueden seguir observando. Las lesiones de NIC 2 y 3 generalmente se extirpan quirúrgicamente. De todas

formas hay que dar seguimiento con la prueba de detección para asegurarse que no reaparezca una lesión.

En Colombia, el cáncer de cuello uterino es de alta incidencia y mortalidad. Este es más frecuente en mujeres de bajo nivel socioeconómico con vida sexual activa y alta multiparidad. Este cáncer está fuertemente asociado con la edad temprana a la primera relación sexual y múltiples compañeros sexuales tanto en las mujeres como en sus parejas. A la vez se diagnostican 6.900 nuevos casos cada año en el país. Este mal, es el tipo de cáncer más frecuente entre las mujeres colombianas.

Esta patología es detectable precozmente mediante un examen conocido como citología cérvico uterina. En varios países en vías de desarrollo como Colombia la cobertura que tienen las mujeres para acceder a este examen es muy baja, encontrándose en Bucaramanga en un estudio realizado una cobertura de 34% en el principal grupo de riesgo para la búsqueda de Cáncer de cérvix.

La Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC), analizando la experiencia de 10 programas realizados en Europa y Canadá, estimó tasas de falsos positivos y falsos negativos próximas al 40%. Este alto porcentaje preocupa por la posibilidad de sobre diagnosticar o, en su defecto, sospechar lesiones neoplásicas que no existen, siendo peor aún aquellos casos que existiendo la lesión preneoplásica o neoplásica, la sospecha diagnóstica se escapa de la detección. Por esta razón sólo con 2 ó 3 extendidos normales realmente se certifica la ausencia de cáncer y, ante la duda, se hace necesario recurrir a otro tipo de pruebas de mayor costo.

Parte de la importancia de este proyecto de grado, radica en que se construirá una herramienta que servirá de apoyo a la clasificación de

aquellas células que presenten dificultad al ojo humano y con esto se hará una contribución en la disminución de los falsos negativos.

Para el desarrollo de este proyecto se utilizó una metodología basada en el Proceso Unificado de Desarrollo teniendo en cuenta las etapas fundamentales del Tratamiento Digital de Imágenes. En la etapa inicial de Adquisición de imágenes, se requirió el uso de un microscopio con una configuración específica, al cual se le acopla una cámara fotográfica que a su vez es conectada a un ordenador. A su vez se utilizó la Inteligencia Artificial, que es una herramienta muy útil para el desarrollo de aplicaciones con imágenes médicas.

Existen en el mercado otro tipo de software para el diagnóstico de imágenes médicas, pero debido al alto costo para su implementación, no son manejados en países en vía de desarrollo. Así la construcción de este tipo de proyectos de investigación realizados por entidades educativas hace un aporte a la medicina, facilitando el acceso a este tipo de herramientas por parte de médicos patólogos y entes en general.

1. PRESENTACIÓN DEL PROYECTO

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo General. Dar un aporte al estudio de células escamosas en citologías cérvico uterinas que presentan cambios de Neoplasia Intraepitelial Cervical II (NIC II) mediante el desarrollo de un software computacional aplicando tratamiento digital de imágenes.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Establecer los criterios correspondientes a cada uno de los parámetros a evaluar en las células en el estadio de NIC II.
- Identificar las características de las células que presenten cambios por NIC II.
- Desarrollar los algoritmos para la identificación de los criterios de cada uno de los parámetros de las células escamosas que permitan clasificarlas como NIC II.
- Incluir los resultados obtenidos experimentalmente en la base de conocimiento, del modelo computacional propuesto por el Grupo de Investigación en Ingeniería Biomédica.

1.2. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

Entre la población mundial femenina, el cáncer de cuello uterino ocupa el segundo lugar de frecuencia presentándose alrededor de 466.000 nuevos casos cada año. De las 231.000 muertes (también anuales) a causa de este cáncer, cerca del 80% ocurre en los países en vías de desarrollo. Esta enfermedad presenta en Colombia una tasa de incidencia informada mundialmente de 32,86 casos por 100 mil habitantes, siendo en el área metropolitana de Bucaramanga de 35,7 por 100 mil habitantes, lo cual nos habla acerca de la magnitud del problema en nuestro medio. En el período comprendido entre los años de 1983 y 1991, la tasa de mortalidad en Colombia debido a esta patología fue de 6,5 por 100 mil habitantes. Actualmente, según Profamilia y la Liga contra el Cáncer “es la segunda causa de muerte de cáncer en la mujer colombiana y nuestro país posee una de las más altas tasas de esta enfermedad en el mundo”.

Esta patología es detectable precozmente mediante un examen conocido como citología cérvico uterina. En varios países en vías de desarrollo como Colombia la cobertura que tienen las mujeres para acceder a este examen es muy baja, encontrándose en Bucaramanga en un estudio realizado una cobertura de 34% en el principal grupo de riesgo para la búsqueda de Cáncer de cérvix. Además se obtuvo que la prevalencia de lesiones preneoplásicas y neoplásicas del cuello uterino, teniendo en cuenta que los datos de citología son alrededor del 2,16% y de estas un 42% corresponden a ASCUS, un 48% a NIC I, un 5,3% a NIC II, un 3.13% a NIC III (2.13% a displasia severa y un 1% a carcinoma in situ) y un 1% a AGUS, presentan una correlación con el diagnóstico histopatológico solamente en un 48.94%. En la población europea la localización tumoral ha mostrado un marcado descenso, atribuido

en parte a la extensión de la realización periódica de esta prueba diagnóstica.

En diversos estudios informados a nivel mundial existe una importante diferencia en la agudeza diagnóstica de este examen, mostrando una gran variación en los resultados de sensibilidad y especificidad. Se han obtenido rangos de sensibilidad entre un 11% - 99% y de especificidad de 14% - 97%, con diseños y tiempos de seguimiento diferentes. La Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC), analizando la experiencia de 10 programas realizados en Europa y Canadá, estimó tasas de falsos positivos y falsos negativos próximas al 40%. Este alto porcentaje preocupa por la posibilidad de sobre diagnosticar o, en su defecto, sospechar lesiones neoplásicas que no existen, siendo peor aún aquellos casos que existiendo la lesión preneoplásica o neoplásica, la sospecha diagnóstica se escapa de la detección. Por esta razón sólo con 2 ó 3 extendidos normales realmente se certifica la ausencia de cáncer y, ante la duda, se hace necesario recurrir a otro tipo de pruebas de mayor costo.

Parte de la importancia de este proyecto de grado, radica en que se construirá una herramienta que servirá de apoyo a la clasificación de aquellas células que presenten dificultad al ojo humano y con esto se hará una contribución en la disminución de los falsos negativos.

Hay factores limitantes de la efectividad del tamizaje que condicionan también una baja eficiencia de estos programas en nuestro medio como son las limitaciones en la validez de la propia citología cérvico uterina. Existe la tendencia en atribuir una tercera parte de los resultados falsos negativos a errores de lectura e interpretación de las muestras en el laboratorio, y las dos terceras partes restantes a fallos en la toma de la muestra (no se logra recoger células anormales existentes). La calidad de un frotis cérvico uterino

depende fundamentalmente de la habilidad y entrenamiento específico del que hace la toma. La formación adecuada y la retroalimentación sobre la calidad de las tomas con citotecnólogos y patólogos se han mostrado muy eficaces para mejorar la calidad de los frotis, pero existe una parte en que por más adecuado entrenamiento la subjetividad del observador interfiere en el diagnóstico o muchas veces cambios sutiles que se escapan al ojo humano dan origen a la no adecuada clasificación de la lesión.

Surge entonces la pregunta que genera este proyecto: ¿Es posible desarrollar un software que permita clasificar las células escamosas de las citologías cérvico uterinas dentro de las patologías más frecuentes clasificadas como reactivas, preneoplásicas o neoplásicas?. La posibilidad de construir esta herramienta ha sido demostrada con productos comerciales; sin embargo, el alto costo de éstos hace inaccesible este tipo de tecnología en las regiones de los países subdesarrollados.

Teniendo en cuenta que existen diferentes lesiones precursoras al Cáncer de Cuello Uterino, que si bien hacen parte de un espectro común dentro de la evolución de las mismas, cada una de ellas presenta características clínicas, colposcópicas, citológicas e histopatológicas diferentes que dificultan el diagnóstico diferencial para cada una de ellas. Por lo tanto, se hace necesario estudiar de forma individual cada una de ellas, para así desarrollar una plataforma robusta que cubra las patologías que se presentan. Se ha determinado que la individualización de los hallazgos será realizada por medio del sistema internacional Bethesda 2001. Utilizado mundialmente en la clasificación y análisis de citologías cérvico uterinas.

El presente proyecto marco, ha sido propuesto gracias a los resultados obtenidos por proyectos de grado realizados en la Escuela de Ingeniería de Sistemas en Informática de la Universidad Industrial de Santander.^{2 3}

Estos proyectos permitieron caracterizar cada uno de los parámetros de las células escamosas normales (basales, parabasales, intermedias y superficiales), y el desarrollo de un software que permite su clasificación.

Con el propósito de continuar el trabajo realizado por el Grupo de Investigación en Ingeniería Biomédica, enmarcado dentro de la línea de investigación de Tratamiento Digital de Imágenes Médicas y de acuerdo con el Sistema Bethesda, se plantea la caracterización y clasificación de los siguientes hallazgos celulares.

1. Organismos: Trichomona Vaginalis, Candida species.
2. Organismos: vaginosis bacteriana, Actinomyces species, virus Herpes simples
3. Cambios celulares reactivos.
4. Atrofia.
5. Virus de Papiloma Humano - VPH.
6. Neoplasia Intraepitelial Cervical I - NIC I

² Tristancho Celis Luz Stella, Castrillón Díaz Luis Eduardo, García Ayala Ernesto, Mendoza Castellanos, Suescún Pedro. Diseño e implementación de un sistema software de visión artificial para el reconocimiento del grado de avance del cáncer en células de muestras citológicas del cérvix uterino basado en el criterio del agrandamiento del núcleo. 1995.

³ Martínez Abaunza, Víctor Eduardo; Mendoza Castellanos, Alfonso; García Ayala, Ernesto; Uribe Pérez, Claudia Janeth. Implementación de un Modelo Computacional para Clasificación Normal – Displásica de las Células Escamosas de Citologías Cérvico Uterinas. 2004.

7. Neoplasia Intraepitelial Cervical II - NIC II
8. Neoplasia Intraepitelial Cervical III - NIC III
9. Carcinoma Invasor.
10. Células endometriales en mujer > 40 años.

Esto permitirá el desarrollo de igual número de proyectos de grado.

De igual manera se proponen los siguientes temas para la investigación realizada por igual número de Tesis de Maestría.

1. Células escamosas atípicas de Significado Incierto - Ascus.
2. Células escamosas atípicas que no se puede excluir lesión intraepitelial de alto grado -Asch
3. Células endocervicales.
4. Adenocarcinoma In Situ.
5. Adenocarcinoma Invasor

1.3 IMPACTO ESPERADO

Se espera que las instituciones de salud y los laboratorios de la región puedan utilizar la información suministrada por el proyecto para diseñar planes de control y prevención de cáncer de cuello uterino y elaborar

tratamientos efectivos de acuerdo al riesgo, consiguiendo de este modo que las instituciones hagan extensivas sus funciones al controlar y mejorar la calidad de vida de los pacientes.

A nivel de investigación, el modelo ayuda a sentar bases para futuros proyectos que relacionen conocimientos de ingeniería y de medicina, con el fin de aportar soluciones a problemáticas de connotación social, primero a nivel regional, y en un futuro a nivel nacional.

1.4 VIABILIDAD

Existen ventajas en el aspecto humano y tecnológico, como son las necesidades actuales del Departamento de Patología y la Dirección de la Escuela de Medicina para apoyar el desarrollo de herramientas que faciliten la investigación en curso para dar respuesta a las necesidades académicas y asistenciales propias de su profesión, también cabe resaltar la disposición que se tiene para involucrarse en el desarrollo de proyectos que beneficien el aprendizaje individual y cooperativo.

Algunos de los equipos necesarios para la ejecución del proyecto se encuentran en el laboratorio del Grupo de Investigación de Ingeniería Biomédica y otros, son aportados por los respectivos codirectores del proyecto. Se espera que mediante gestiones con entidades que financian la investigación, como en el caso de Colciencias, logremos la consecución de equipos con mayor capacidad de trabajo.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. MORFOLOGÍA NORMAL DEL CERVIX O CUELLO UTERINO

El cuello uterino o cérvix uterino es la porción fibromuscular inferior del útero que se proyecta dentro de la vagina. Es un componente anatómico exclusivo de la mujer.

El tamaño del cuello uterino mide de 3 a 4 cm. de longitud y 2,5 cm. de diámetro, aunque varía según la edad, el número de partos y el momento del ciclo menstrual.

2.2. PARTES DEL CERVIX



FIGURA 1. FOTOGRAFIA DE CERVIX NORMAL

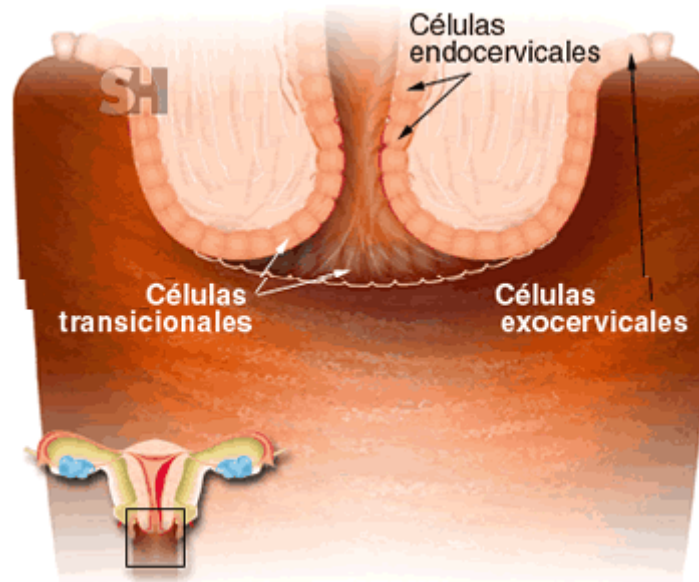


FIGURA 2. PARTES DEL CERVIX

2.2.1 Exocérvix o ectocérvix: Es la parte que se visualiza más fácilmente del cuello uterino a través de la vagina en una colposcopia. Está rodeado por los fondos de saco vaginales. Está recubierto por un epitelio escamoso estratificado rosado, de múltiples capas celulares. Las capas celulares intermedia y superficial del epitelio escamoso contienen glucógeno.

2.2.2 Endocérvix: No es visible en gran parte, porque se encuentra en el centro del cérvix formando el canal endocervical que une el orificio cervical externo (OCE) con la cavidad uterina. Esta recubierto por un epitelio cilíndrico rojizo de una única capa celular.

2.2.3 Orificio cervical externo: Es el orificio que comunica la cavidad uterina a través del canal endocervical con la vagina y se suele localizar en el centro del exocérnix.

2.2.4 Unión escamo-socilíndrica: Es la unión del epitelio cilíndrico con el epitelio escamoso y se suele localizar generalmente el orificio cervical externo, pero varía según la edad, el momento del ciclo menstrual y otros factores como el embarazo y el uso de anticonceptivos orales.

2.3 MORFOLOGIA DEL CARCINOMA DEL CUELLO UTERINO

El cáncer ocurre cuando las células en alguna parte del cuerpo comienzan a crecer sin control. Las células normales se dividen y crecen de manera ordenada, pero las células cancerígenas continúan creciendo y desplazando a las células normales. Aunque hay muchos tipos de cáncer, todos tienen en común este crecimiento celular descontrolado.

El continuo crecimiento lleva a la formación de una masa tumoral. Esta masa puede ser tanto benigna como maligna.

Los tumores benignos no son cancerosos. Generalmente se pueden operar (extirpar) y, en la mayoría de los casos, no vuelven a aparecer. Aunque los tumores benignos no son una amenaza para la vida, es importante que las células de éstos no se diseminen a otras partes del cuerpo. Los pólipos, quistes y verrugas genitales son tipos de tumores benignos del cuello uterino, también denominado cérvix.

En cambio, los tumores malignos sí son cancerosos. Las células cancerosas pueden invadir y dañar tejidos y órganos localizados cerca del tumor; también pueden desprenderse de un tumor maligno y entrar en el torrente sanguíneo o en el sistema linfático, de esa manera, el cáncer de cuello de útero puede diseminarse a otras partes del cuerpo como los pulmones, ganglios linfáticos, recto, vejiga o los huesos de la columna vertebral. Al proceso mediante el cual el cáncer se disemina, se le llama metástasis.

El cáncer de cuello de útero es una enfermedad en la cual se forman células malignas (cancerosas) en los tejidos del cuello uterino.

Este tipo de cáncer comienza en la membrana que recubre el cuello uterino (cérvix), que es la parte inferior de la matriz (útero). El útero tiene dos partes: el cuerpo del útero, localizado en la parte superior, que es donde se desarrolla el feto; y el cuello uterino, localizado en la parte inferior que conecta el cuerpo del útero con la vagina, llamado también canal de parto.

El cáncer de cuello de útero no se forma repentinamente. En sus inicios, algunas células pasan de ser normales a ser células precancerosas, y luego cancerosas. Este proceso de cambio puede tomar varios años.

El carcinoma del cuello uterino comienza en la unión entre el epitelio escamoso y el cilíndrico del orificio exocervical, o cerca de la misma. Esta unión puede no coincidir con el orificio anatómico cuando ha ocurrido eversión o ectropión (revertir, proceso inflamatorio). Los carcinomas rara vez o nunca nacen de las porciones más laterales del exocervix. En su comienzo, el carcinoma del cuello del útero no produce alteración apreciable a simple vista. El diagnóstico solo puede sospecharse al efectuar la prueba o frotis de Papanicolaou. Este consiste en pincelar el cuello uterino con una solución de yodo y yoduro potasio. El epitelio cervical normal posee abundante

glucógeno y se tiñe de pardo caoba. El foco canceroso, por carecer de glucógeno no se tiñe. Debe advertirse que este método puede dar resultados positivos falsos, pues la zona de inflamación quizá no se tiña y en ocasiones estos focos displásicos descaman células atípicas inflamatorias que se confunden con elementos cancerosos.

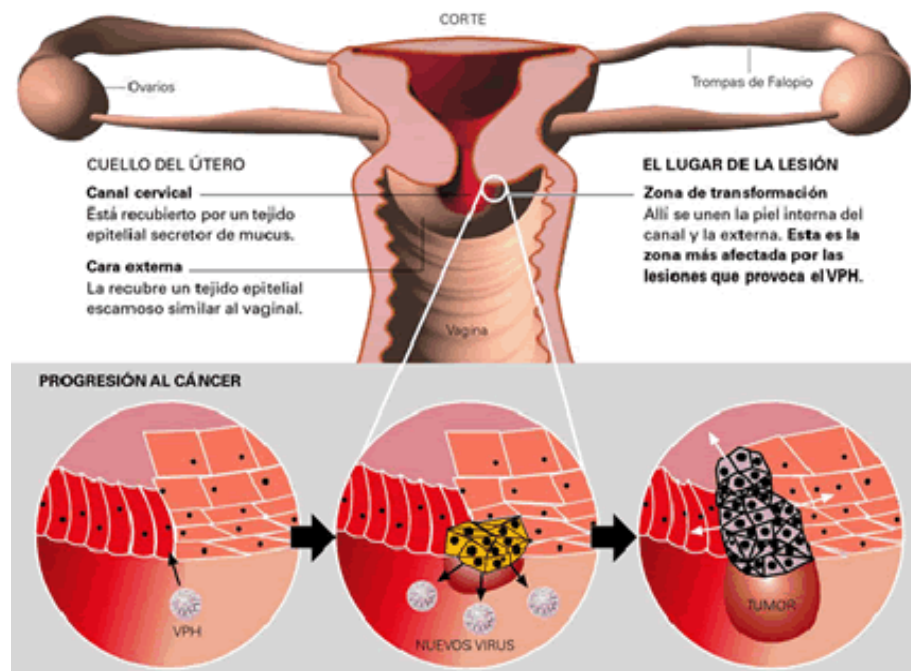


FIGURA 3. CORTE DEL CUELLO UTERINO

2.4 LESIONES PRECURSORAS DEL CARCINOMA DEL CUELLO UTERINO

2.4.1 NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL (NIC)

2.4.1.1 TERMINOLOGIA

A comienzos del siglo XX (28, 114) se describió la presencia de áreas de carcinoma superficial en los bordes del carcinoma cervical invasor, áreas que fueron consideradas como lesiones premalignas.

Hasta el año 1961 se emplearon muy diversos términos para designar las lesiones premalignas del cuello uterino: epitelio atípico simple, epitelio con elevada atipia o rúbricas I, II, III y IV (Hinselman), epitelio hiperactivo, epitelio sospechoso, epitelio intranquilo, epitelio anormal, hiperplasia de células basales, hiperactividad de células basales, anaplasia, hiperplasia de células espinosas, etc.

En 1961, en el I Congreso Internacional de Citología, un comité de expertos sobre histología del cuello uterino, reunido en Viena, propuso englobar con el término displasia a una gran parte del grupo de lesiones premalignas. El término displasia, introducido por Reagan en 1953, fue definido en Viena como 'todo epitelio escamoso situado sobre la superficie o en las glándulas, que muestra alteraciones en la diferenciación sin alcanzar el grado de perturbación que caracteriza el carcinoma *in situ*'. El término *displasia* comprende un espectro de epitelios que muestran diferentes grados de atipias, por ello se propuso distinguir tres grupos: leves, moderados y graves, según la intensidad de la atipia.

En 1910, Rubin introdujo la denominación carcinoma *in situ*, aunque hasta Broders, en 1932, no se generalizó este término. En 1961, en el I Congreso Internacional de Citología el comité anteriormente mencionado definió el carcinoma *in situ* como 'aquellos casos en los que no hay invasión y que muestran un epitelio en la superficie en el que no existen signos de diferenciación. El epitelio señalado puede extenderse a las glándulas

subyacentes. Las células de las capas más superficiales pueden mostrar un ligero aplanamiento ' .

En 1967, Richart defendió por primera vez el concepto de neoplasia cervical Intraepitelial, que ha terminado por imponerse en la actualidad. Definimos la neoplasia cervical Intraepitelial (CIN) como un espectro de epitelios escamosos anormales, que comprende desde epitelios con alteraciones en la estructuración y maduración, pero que están bien diferenciados, es decir, que se corresponden con el concepto clásico de displasia leve, hasta epitelios con ausencia total de diferenciación, situados en la superficie, o relleno de glándulas, pero sin invasión, es decir, se corresponden con el concepto de carcinoma *in situ*.

La introducción del término neoplasia Intraepitelial se basa fundamentalmente en el concepto de que entre las displasias y el carcinoma *in situ* son fundamentalmente cuantitativas, más que cualitativas. Por otra parte, se ha demostrado que un número importante de displasias, si no se tratan adecuadamente y se dejan a su evolución espontánea, se transforman en carcinoma *in situ*, aunque, como se analiza en detalle más adelante, el porcentaje de displasias que sufren esta transformación no se conoce con seguridad.

Las anomalías que caracterizan a la CIN son:

1. Las alteraciones afectan sólo el epitelio de superficie, aunque pueden extenderse al que rellena las glándulas.
2. Pérdida de la estratificación y de la polaridad celular.
3. Ausencia de diferenciación y de maduración.
4. Las células escamosas tienen diferente tamaño y forma y está aumentada la relación núcleo-citoplasma.

5. Alteraciones en el núcleo (hipercromatismo e irregular distribución de la cromatina nuclear).
6. Aumento del número de mitosis e incluso mitosis anormales.

Según la intensidad de estas anormalidades, se distinguen tres grados:

1. CIN, grado I (displasia leve). Las anormalidades afectan aproximadamente sólo el tercio inferior del grosor total del epitelio.
2. CIN, grado II (displasia moderada). Las anormalidades afectan entre un tercio y dos tercios de todo el espesor del epitelio.
3. CIN, grado III (displasia grave y carcinoma *in situ*). Las alteraciones se extienden prácticamente a todo el espesor del epitelio.

En la práctica, la introducción del concepto de CIN ha supuesto el tratamiento de todas aquellas que se diagnostican. Sin embargo, hay un grupo de ellas que probablemente no evolucionarán a carcinoma invasivo, como detallaremos a continuación. Por ello, en los últimos años se ha intentado distinguir entre las CIN que muy probablemente no se transformarán en carcinoma invasor y las que, por el contrario, sí lo harán.

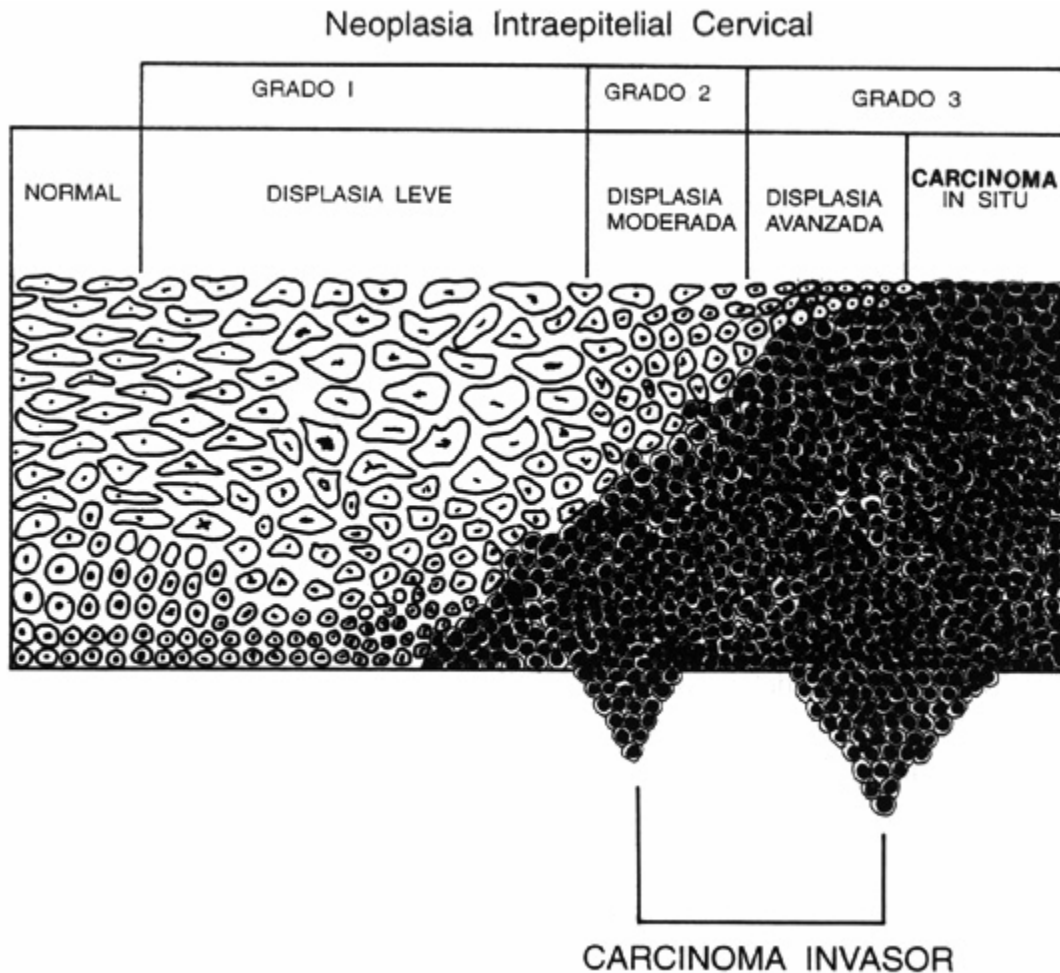


FIGURA 4. ESQUEMA DE LAS LESIONES PRECURSORAS DEL CARCINOMA ESCAMOSO INVASOR DEL CUELLO UTERINO.

En los últimos años se ha señalado que el contenido de ADN en los núcleos de las células puede ayudarnos, como se expone más adelante, a conocer la posible evolución de la CIN. La presencia de patrones diploideos y poliploideos hablaría en favor de cambios reversibles ligados probablemente a estímulos inflamatorios no neoplásicos, mientras que la existencia de lesiones aneuploideas significaría verdaderas neoplasias, que

probablemente persistirán y que, en ocasiones, pueden progresar a carcinoma invasor. Por todo ello el concepto unitario que entraña el término de neoplasia Intraepitelial ha sido cuestionado en los últimos años.

El conocimiento de la importancia que el virus del papiloma humano (HPV) desempeña en la etiología del cáncer escamoso del cuello uterino ha abierto un nuevo campo de estudio.

En 1985, el Instituto Nacional del Cáncer (EE.UU) introdujo una nueva clasificación (llamada clasificación de Bethesda), en la que se descarta el sistema de graduación de Papanicolaou, así como la referencia al término CIN, y se introduce el concepto de *lesión intraepitelial escamosa de bajo grado* y el de *lesión escamosa de alto grado*.

1. *Lesión escamosa Intraepitelial (SIL) de bajo grado*. Comprende epitelios que muestran cambios en su estructura y en las células, análogos a la displasia leve y la **CIN I**. Están producidos o asociados con determinados tipos de **HPV** (los 6 y 11, aunque en algunos casos también el 16) que dan lugar a infecciones autolimitadas. Habitualmente, el virus no se integra en los cromosomas de las células, las cuales suelen presentarse como poliploides. Son lesiones que excepcionalmente progresan a carcinoma invasor.
2. *Lesión escamosa Intraepitelial (SIL) de alto grado*. Comprende epitelios con cambios idénticos a los descritos en la displasia moderada o grave, o a las características de **CIN II** o **CIN III**. Están producidos por los tipos 16 y el 18 de **HPV**, fundamentalmente, y sus células habitualmente son aneuploides. Contrariamente al grupo anterior, tienen una potencial capacidad de transformación de cánceres invasores, por lo que constituyen auténticas lesiones premalignas.

Esta terminología y clasificación en dos grupos se ha extendido ampliamente en la práctica y hoy en día es muy empleada. Al clínico le resulta muy útil conocer que está ante una lesión que excepcionalmente se transformará en invasora y que, por tanto, puede adoptar una actitud expectante de control, o que por el contrario se encuentra ante un epitelio con potencialidad de transformación en un carcinoma invasor y que deberá ejecutar un tratamiento más o menos agresivo, según los casos.

Sin embargo, esta clasificación ha sido también objeto de críticas. En primer lugar, resulta difícil diferenciar ambos grupos, con seguridad, mediante la citología y la histología. Por otra parte, aunque habitualmente el tipo de **HPV** es distinto en uno y otro grupo, el tipo 16 de **HPV** puede originar lesiones que unas veces progresan a carcinoma invasor pero que otras pueden remitir. Finalmente, el término 'lesión' parece apropiado para el primer grupo pero no para el segundo, que es una verdadera lesión premaligna o neoplasia.

OMS	Infección por HPV	displasia leve	displasia moderada	displasia severa	Carcinoma in situ
Soc. Inter.					
Patología					
Cervical	Inf. HPV	NIC I	NICII	NIC III	
Y Colpos- copia					

Clasificación		
Bethesda	Lesión intraepitelial	Lesión intraepitelial
	Escamosa de bajo grado	Escamosa de alto grado

2.4.1.2. Neoplasia Intraepitelial de tipo 2 (NIC 2)

La mitad superior del epitelio muestra diferenciación y maduración, y persiste la atipia nuclear hasta la superficie. Las anormalidades de los núcleos son más intensas que en el grado 1 de neoplasia intraepitelial y aparecen más núcleos anormales en plano más alto en el epitelio, que en la neoplasia de grado 1. En los dos tercios basales del epitelio existen imágenes mitóticas que pueden ser anormales.

2.4.2. FACTORES DE RIESGO

- 1) Inicio precoz de actividad sexual: < 17 años, se correlaciona con un mayor número de parejas sexuales a lo largo de la vida.
- 2) Infección por Virus Papiloma Humano: constituye el factor epidemiológico de mayor importancia.
- 3) Múltiples parejas sexuales
- 4) Pareja con múltiples parejas sexuales
- 5) Enfermedades de transmisión sexual
- 6) Factores socioeconómicos, culturales, habitacionales e higiénicos: influyen de manera importante en la mayor prevalencia de lesiones precursoras en países subdesarrollados. Hay mayor prevalencia en

grupos marginados, con malas condiciones sanitarias y con menor acceso a los recursos de salud.

- 7) Tabaquismo: se ha encontrado VPH serotipo 16 en epitelio histológicamente sano en un alto porcentaje de la población femenina. Esto hace suponer que existen otros factores para que se produzca el desarrollo de una neoplasia maligna, como factores inmunológicos, hormonales, tabaquismo o la presencia de otros virus.

2.4.3. INFECCIÓN POR VIRUS PAPILOMA HUMANO (HPV)

El HPV constituye un conjunto heterogéneo de virus DNA de doble cadena con alrededor de 60 genotipos. Puede afectar los epitelios de las vulva, vagina y cuello uterino. Se pueden distinguir dos expresiones morfológicas de su infección:

- 1) Lesiones productivas o condilomas acuminados: son lesiones benignas, exofíticas, excepcionalmente producen cáncer. Son producidas por serotipos de HPV clasificados como benignos.(6,11,30,34,40,41,42,43,44,57)
- 2) Lesiones no productivas o condilomas planos o lesión tipo HPV: se reconocen a la colposcopia como zonas blanquecinas de leucoplasia y/o alteraciones de la trama vascular (base, mosaico) en el cerviz. Constituyen la cervicopatía por HPV.

El diagnóstico histológico de certeza se realiza al ver las células patognomónicas de infección por HPV, los COILOCITOS. Es una célula con una gran vacuola perinuclear, con un citoplasma que se deforma por

desplazamiento de los contornos celulares. Su núcleo queda flotando en esta cavidad y se ubican en la capa superficial e intermedia del epitelio. Es producida por los serotipos que se clasifican como de riesgo intermedio (31, 33, 35, 39, 52, 58) y por los de alto riesgo (16, 18, 45, 56).

El diagnóstico de la infección por HPV se puede realizar a través de la visualización directa de células infectadas o indirectamente por los cambios que el virus induce en el epitelio, mediante la microscopía óptica. Otros métodos diagnósticos son la microscopía electrónica, métodos de hibridación del DNA viral como hibridación in situ, PCR, Dot blot y técnicas de inmunohistoquímica.

2.5. CUADRO HISTOLOGICO DE LA NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL (NIC)

La evaluación histopatológica de material cervical de biopsia debe dar al operador elementos para ver si existe NIC en una pieza particular de epitelio, y en caso de que así sea, el grado de la neoplasia. Las decisiones anteriores a veces son difíciles, y la primera lo es porque los cambios benignos y fisiológicos pueden ser tomados erróneamente por neoplasia intraepitelial, y la segunda, porque el número de características que es necesario considerar y el grado se subjetividad en la interpretación de signos, varían en forma cuantitativa y no cualitativa.

La neoplasia intraepitelial cervical a veces se divide en grados, a pesar de que no hay congruencia del concepto de la enfermedad con la "clasificación por grados", por la idea de que el grado de anormalidad histológica en gran medida es un elemento que rige el pronóstico y de esta forma también puede

utilizarse como pauta para la terapéutica. Lo anterior podría interpretarse como si se utilizaran criterios puramente morfológicos para predecir la "conducta" biológica del epitelio anormal, principio que, por supuesto, se usa ampliamente en histopatológica, pero no siempre es precisa la correlación entre el aspecto, la imagen y la conducta.

En el cuadro se señalan las características histológicas en las cuales se basa el diagnóstico de neoplasia intraepitelial cervical.

Cuadro 1. Signos histológicos de la neoplasia intraepitelial cervical

1. Diferenciación (maduración, estratificación)
 - a) Presente o ausente
 - b) Proporción de epitelio que muestra diferenciación
2. Anormalidades nucleares (imag.)
 - a) Proporción núcleo: citoplasma
 - b) Hiperchromasia
 - c) Pleomorfismo nuclear y anisocariocitosis
3. Actividad mitótica
 - a) Número de figuras mitóticas
 - b) Altura en el epitelio
 - c) Configuraciones anormales

2.5.1. Anormalidades del núcleo.

Entre los signos que caracterizan al núcleo de las células en la neoplasia intraepitelial cervical están agrandamiento, hipercromasia, "cúmulos" de cromatina e irregularidades en el tamaño y forma del núcleo, todos los cuales pueden reflejar el contenido de DNA aneuploide de las células y constituyen un criterio de enorme importancia para el diagnóstico y clasificación de la neoplasia intraepitelial cervical, por grados. Por lo regular existe correlación adecuada entre la anormalidad nuclear y el grado de diferenciación que se observa; cuanto más intensa es la anormalidad nuclear, menor diferenciación existe. Si un epitelio particular no muestra la correlación citada, habrá que tomar el grado de anormalidad del núcleo como una pauta más fidedigna respecto a la "graduación" de la neoplásica intraepitelial, que la proporción del espesor del epitelio que muestra maduración.

2.6. DIAGNÓSTICO

Ésta se trata de una patología asintomática, por lo que se debe pesquisar a mujeres portadoras que son supuestamente sanas. Para ello se utiliza el screening de citología exfoliativa.

2.6.1. Citología Exfoliativa

El principio de la técnica del PAP consiste en la obtención mediante una espátula, tórula, cepillo, o pipeta de aspiración, de células que normalmente se exfolian hacia la superficie de las mucosas. El PAP es considerado un buen método de screening debido a que :

- Presenta una sensibilidad suficiente (60 a 85 %) para detectar la enfermedad en etapa temprana. Los falsos (-) están dados por error en la toma de muestra, duchas vaginales, inflamación local.
- Presenta elevada especificidad (99%), con falsos (+) dados por tratamientos previos con radioterapia o quimioterapia, cervicitis crónica, etc.
- Posibilita la detección de la enfermedad en una etapa que siendo precozmente tratada, proporciona un buen pronóstico.
- Es fácil de realizar
- Es de bajo costo
- Provoca mínimas molestias en las pacientes

El objetivo final del PAP es reducir la morbimortalidad por CaCU detectando lesiones pre-malignas a tiempo para manejarlas antes que se tornen muy graves y de mal pronóstico.

Se recomienda que todas las mujeres con actividad sexual actual o pasada, o que han llegado a los 18 años de edad, deben ser objetos de un frotis anual de PAP y de una exploración ginecológica. Después de 3 o más estudios anuales satisfactorios, se puede realizar el PAP con menos frecuencia, quedando ésto a criterio del médico tratante.

La toma del PAP se realiza en posición ginecológica, colocando un espéculo vaginal y visualizando el cuello uterino. Luego, mediante una espátula y tórula se obtienen células del exocérnix, zona de transición y componente endocervical, que se extienden en un portaobjeto al que se le aplica un fijador en spray para posteriormente ser teñidos con la tinción de Papanicolau, que tiene tres componentes: hematoxilina, orange-g y EA 50.

Para obtener una buena muestra a través de esta técnica se debe preparar e instruir a la paciente. No pueden efectuarse duchas vaginales por 24 hrs. antes del examen y debe existir abstinencia coital durante el mismo período de tiempo. No pueden usarse fármacos o preparados intravaginales durante al menos una semana antes del estudio. Por último, jamás hacer tacto vaginal antes de tomar la muestra.

En un intento por establecer un consenso acerca de la terminología en la citología cervical, el National Cancer Institute estableció una nueva nomenclatura que se designó con el nombre de Sistema de Bethesda, y que se compara con la de la OMS y con la clasificación original de PAP.

En el Sistema de Bethesda se recomienda que los informes de laboratorio señalen cada uno de los siguientes elementos:

- valoración de lo adecuado de la muestra (satisfactorio, menos que satisfactorio, insatisfactorio).
- categorización general del diagnóstico (normal o alterado).
- diagnóstico descriptivo (precisar si hay signos de infección, cambios inflamatorios, anormalidades en las células epiteliales).

2.6.1.1. Nomenclatura en citología cervical

Sistema PAP	OMS	Sistema de Bethesda
Clase I	Normal	Dentro de límites normales
Clase II	Atípico	Cambio de reacción o reparación
Clase III	Displasia	Anomalía de cél. epitelial plana, céls. escamosas atípicas de importancia no determinada, lesión intraepitelial escamosa.
	Displasia leve	Bajo grado (incluye HPV)
	Displasia moderada	Alto grado
	Displasia intensa	Alto grado
Clase IV	Carcinoma in situ	Alto grado
Clase V	Carcinoma invasor	Carcinoma de céls. Escamosas
Clase VI	Adenocarcinoma	Anomalía de céls. glandulares: adenocarcinoma
		Neoplasia maligna no epitelial

FIGURA 5. NOMENCLATURA EN CITOLOGIA CERVICAL

2.6.2. Colposcopía

Método que permite la visualización directa del cuello y de la zona de transición, a través de un microscopio binocular que amplía la imagen.

Presenta menor sensibilidad y especificidad que el PAP, y al ser un examen caro y que requiere experiencia y tiempo, no se recomienda para los estudios de detección.

Su mayor utilidad radica en la obtención de biopsia dirigida en pacientes seleccionados por PAP alterado.

2.6.3. Tinciones

Acompañan a la colposcopía.

- a) SCHILLER: sustancia yodada que tiene afinidad por el glicógeno (Lugol), tiñe el epitelio exocervical porque sus células son ricas en glicógeno, a diferencia del endocervix que no se tiñe. Se puede limitar claramente el endo y exocervix. Las células neoplásicas disminuyen su contenido de glicógeno y no se tiñen.
- b) TOLUIDINA: tiñe núcleos, tiñendo más en zonas de alta replicación como las neoplasias.
- c) ACIDO ACETICO: visualiza zonas de epitelio blanco. Se utiliza en todas las colposcopías, mientras que las otras tinciones se utilizan en situaciones específicas.

2.6.4. Biopsia

La biopsia se realiza toda vez que exista anormalidad citológica. Se pretende obtener así un diagnóstico exacto.

Se debe tomar muestra del exocérvix y del endocérvix. La biopsia exocervical puede ser dirigida (con colposcopio) o no dirigida, y la endo-cervical se realiza por medio del curetaje o raspado del canal, que entrega buena información para un posterior estudio. El curetaje es un procedimiento que debe efectuarse siempre, porque existe un % elevado de lesiones potencialmente malignas que no se observan con el colposcopio.

2.6.5 Conización

Es una biopsia que se realiza en forma de cono, con base distal y vértice hacia el canal endocervical. Incluye exocérvix, zona de transición y una porción del endocérvix. Se utiliza como biopsia diagnóstica, pues sirve para establecer el grado y la extensión de la lesión. A su vez, puede emplearse como biopsia terapéutica, ya que permite determinar si se ha extirpado completamente la lesión, no requiriéndose otro tratamiento.

Indicaciones de Cono biopsico:

- colposcopía insatisfactoria

- lesión no visible a la colposcopia
- biopsia que muestra microinvasión
- discordancia entre citología y Bx por colposcopia
- dg de adenocarcinoma in situ
- curetaje endocervical que muestre lesión

Pueden utilizarse 2 técnicas:

- Asa de LEEP
- Cono quirúrgico

Asa de LEEP (Loop electrosurgical Excision Procedure): son equipos electroquirúrgicos que mezclan corte y coagulación, facilitando la hemostasia e la zona quirúrgica. Puede ser utilizado en la consulta ambulatoria y con anestesia local.

Cono Quirúrgico: se extrae el cono con bisturí, su mayor complicación es el sangramiento post operatorio. Otras complicaciones son las sinequias y las infecciones. En general no compromete la fertilidad posteriormente.

2.7. TRATAMIENTO

2.7.1. Observación

Sólo en casos muy seleccionados. Puede ser una opción terapéutica válida cuando la lesión es pequeña y de bajo grado histológico. Generalmente

indicada en pacientes muy añosas, embarazadas y en aquellas que rechazan otras alternativas.

2.7.2. Métodos conservadores

Para realizar algún tipo de terapia conservadora, se deben cumplir las siguientes situaciones:

- Clínica de patología cérvico-uterina con experiencia
- Zona de transición completamente visible
- Curetaje endocervical (-) para células neoplásicas
- Correlación cito-colpo-histológica
- Márgenes de lesión visible
- Exclusión absoluta de la presencia de cáncer invasor
- Lesión menor de 3 cm.
- Posibilidad de adecuado seguimiento
- Indicación cuando es NIC I o II.

2.7.3. Técnicas conservadoras

2.7.3.1. CRIOTERAPIA

Produce cristalización del agua intracelular. Como congelantes se utilizan el óxido nitroso y anhídrido carbónico. Existen varios esquemas de aplicación, siendo el intermitente el que mejor resultado ha dado. Consiste en dos aplicaciones de 3 min. cada una con intervalo de 5 min. de descanso.

Para que la técnica sea satisfactoria se debe lograr un halo permanente que sobrepase en más de 3 mm. el borde de la lesión. La profundidad que se alcanza con la crioterapia es de 2 a 5 mm., por lo que en las NIE con compromiso glandular es discutible su eficacia. Presenta una tasa de curación de aprox. 80 -90%.

Ventajas	Desventajas
<ul style="list-style-type: none">- Método eficaz y simple- Bajo costo- Ambulatorio- Poco efecto en fecundidad	<ul style="list-style-type: none">- No permite tomar biopsia-Traslada al endocervix la zona de transición-Complicaciones:hemorragia, infecciones, estenosis cervical (raras)-Flujo vaginal post tto.

FIGURA 6. CUADRO COMPARATIVO DE VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LA CRIOTERAPIA

2.7.3.2. ELECTROCAUTERIZACION

Consiste en la coagulación de la lesión y de toda la zona de transición, bajo colposcopia. Sin anestesia, no logra destruir más de 3 mm.(profundidad), debido al dolor.

Desventajas:

- Profundidad menor a 3 mm
- No permite tomar biopsia

El fracaso es cercano al 10%, pero con anestesia el índice de fracaso disminuye a un 3 %, debido a que se alcanza una mayor profundidad.

2.7.3.3. LASER DE CO2

Produce calor que hace hervir el agua intracelular, generando vaporización que resulta en la lisis celular.

Presenta una tasa de curación de 82 a 96 %. Debido a que alcanza una profundidad mayor de 7 mm. puede indicarse en lesiones que ocupan el endocérvix o las glándulas del mismo.

Ventajas	Desventajas
<ul style="list-style-type: none">- Ambulatorio (bajo colposcopía)- Rápida cicatrización- No traslada zona de transición	<ul style="list-style-type: none">- Alto costo- No permite tomar biopsia- Requiere experiencia de operador

**FIGURA 7. CUADRO COMPARATIVO DE VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LASER
DE CO2**

2.7.3.4. ASA DE LEEP

Consiste en realizar biopsia excisional de la lesión con asa especial con electrocoagulación. En algunos casos se puede efectúa en forma ambulatoria con buena tasa de curación. Su ventaja principal es que permite tomar biopsia.

2.7.4. Seguimiento de métodos conservadores:

- COLPOSCOPIA Y PAP:
- Primer año a los 3, 6 y 12 meses
 - Segundo y tercer año cada 6 meses
 - Curación : 2 pap (-) consecutivos.

2.7.5. Métodos quirúrgicos

Presentan un elevado porcentaje de curación y entregan información histológica óptima. Las desventajas radican en el elevado costo y en la alta morbilidad que implica una cirugía.

2.7.5.1. CONIZACION

Tiene indicaciones precisas tanto diagnósticas como terapéuticas:

Indicaciones Diagnósticas:

- cuando hay una lesión importante pero no pueden observarse sus límites
- cuando es (+) el legrado endocervical
- cuando hay discordancia cito-colpo-histológica
- cuando se diagnostica carcinoma microinvasor en biopsia dirigida
- cuando se diagnostica Ca in situ con compromiso glandular
- cuando la experiencia del colposcopista es inadecuada para descartar una lesión invasora

Indicaciones Terapéuticas:

- en casos de NIC III
- cuando la vigilancia de la evolución de la paciente es problemática.

El tamaño del cono depende de la extensión y ubicación de la lesión. El cono puede resultar:

- suficiente: con bordes del cono libre.
- insuficiente: bordes con células neoplásicas.

- diagnóstico: se biopsia lesión, pero no se extrae completamente.
- terapéutico: se extrae completamente la lesión y después de 2 años no hay compromiso neoplásico.

El cono puede complicarse con: hemorragias (5-10%), sinequias, perforación uterina, infección y lesión de recto y/o vejiga.

2.7.5.2. HISTERECTOMIA

Es el método que presenta menor residiva (<1%).

Indicaciones:

- Carcinoma in situ
- Cono insuficiente
- Factores asociados a NIE: PIP, endometriosis, paridad completa.
- Imposibilidad de seguimiento y control adecuado

2.7.6. Seguimiento de métodos quirúrgicos:

PAP y Colposcopia de por vida.

2.8. CANCER MICROINVASOR

Es una lesión que invade el estroma hasta una profundidad de 3 mm. o menos, bajo la base del epitelio, y en el que no hay datos de invasión del espacio vascular linfático. El Ca microinvasor representa otro paso en la progresión de la NIC inducida por HPV.

Clínica:

Mujer multípara de 45-55 años, primípara antes de los 20 años. Generalmente es asintomático.

Diagnóstico:

Sólo se hace después de un cono cervical de cortes adecuados (mínimo 12 cortes por muestra).

Tratamiento:

Hiserectomía Total abdominal o vaginal

Seguimiento Ca microinvasor:

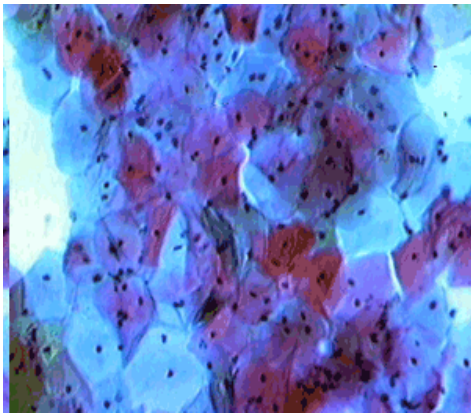
Se realiza PAP y Colposcopia:

-Primer y segundo año cada 3 meses

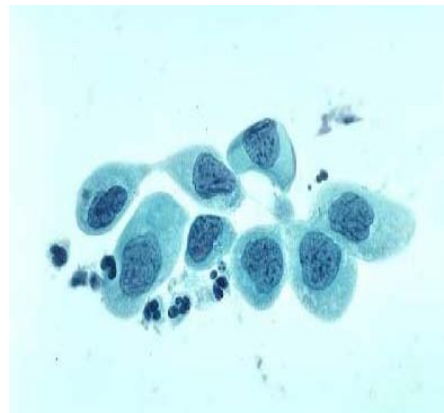
-Hasta 5º año cada 6 meses

-PAP anual

2.9. LA CITOLOGIA



(a)



(b)

FIGURA 8. (a) Células de Citología Normal Células Anormales. (b) Displasia Moderada NIC II.

La citología, como su nombre indica, es el estudio de las células, es decir de su morfología, utilizando un microscopio óptico. La citología cervical, en la revisión ginecológica anual, consiste en la recogida de material de dos zonas del cuello uterino o cérvix (toma interna y externa del cuello del útero), mediante una espátula, así como una tercera muestra del fondo vaginal, constituyendo lo que venimos a llamar triple toma o citología cervical. Dicho material se extiende en un cristal o portaobjetos, y tras teñirlo con líquidos especiales, se observa al microscopio.

2.9.1. OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

TECNICA: Se tiene como meta para obtener la muestra, raspar minuciosamente la unión de los epitelios escamosos y cilíndricos. El material debe obtenerse antes de la exploración bimanual, para excluir la exfoliación traumática de células, y el espéculo debe introducirse sin lubricante, porque éste puede contaminar la muestra. Después de observar el cuello a simple vista, se introduce la mitad más larga de la espátula en el orificio externo, y se gira 360° con presión firme. Hay que extraer con enorme cuidado la espátula, sin tocar las paredes de la vagina, para evitar la contaminación con células de la porción inferior de las vías genitales.

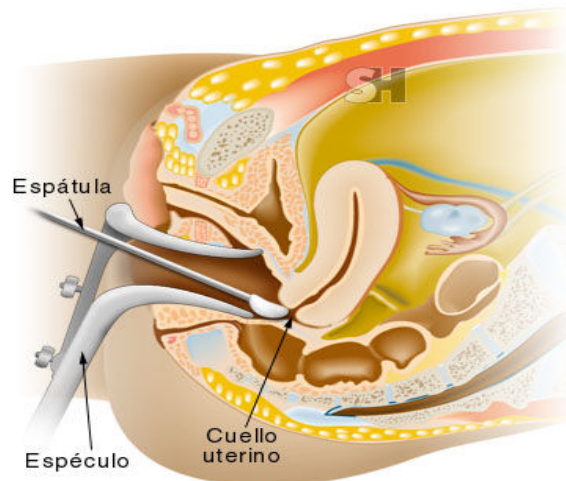


FIGURA 9. FROTIS DEL CUELLO UTERINO

El frotis o extensión se hace al diseminar de manera uniforme el material obtenido en una laminilla, que de inmediato deberá etiquetarse (a lápiz) con el nombre de la paciente, en el extremo esmerilado. La laminilla se

introducirá inmediatamente en un recipiente con un fijador alcohólico o se cubrirá con una cantidad suficiente de una mezcla de alcohol y polietilendiol. Si se permite que se seque cualquier porción del frotis antes de la fijación, habrá borramiento de los detalles de la célula y entonces perderá su utilidad para los planes de detección.

2.9.2. FROTIS ADECUADO Y EL PROBLEMA DE LA NEGATIVIDAD FALSA

La presencia de capas de células endocervicales en el frotis es signo de que se ha obtenido la muestra de una zona importante. La aparición de células escamosas metaplásicas inmaduras indica que la muestra se tomó de la zona de transformación, (pero la identificación de dichas células es menos fidedigna.) Sin embargo, las capas de células endocervicales por lo regular no se advierten en más de 50% de los frotis de material cervical "sistemáticos". Su ausencia aparente pudiera depender del estado fisiológico del cuello o de técnicas inadecuadas de muestreo. Por ejemplo, en el embarazo el epitelio cervical es blando, las células endocervicales no son cohesivas y a menudo no aparecen en capas en el frotis. La misma explicación podría aducirse respecto a su ausencia frecuente en frotis de mujeres que ingieren anticonceptivos "por combinación". Después de la menopausia, la recesión o "retracción" de la unión escamocilíndrica en el conducto cervical, puede hacer que tal zona se aleje de la porción penetrante del instrumento o espátula, excepto los más largos.

Algunos frotis contienen tan poco material, que es necesario rechazarlos por inadecuados para los fines de la detección. En otros, su rechazo se debe a que consisten casi en su totalidad de sangre o exudado inflamatorio. Lo anterior es una decisión bastante arbitraria y subjetiva en el laboratorio, y puede comprender el rechazo incluso de 10% de todos los frotis. El carácter fidedigno del resto de los mismos debe evaluarse con el criterio casi imperfecto de la presencia de células endocervicales. Cuando menos 40% de los frotis no contienen "capas" de células endocervicales pero, al parecer, incluyen una buena cantidad de células escamosas. No hay forma de saber si estas células provienen de la zona de transformación o de otra área del ectocérvix o porción superior de la vagina (excepto en una minoría que muestra metaplasia escamosa inmadura). Las fallas del frotis que originen un comunicado falsamente negativo también pueden depender de un error de laboratorio. Las revisiones de frotis negativos obtenidos de mujeres que tienen cáncer invasor, señalan que los errores de muestreo y de laboratorio son la causa de un número casi igual de casos de esta índole.

El operador tendrá perfecta conciencia de que el frotis es menos sensible para detectar cánceres invasores, que para la detección de neoplasia intraepitelial. La hemorragia por contacto y la infección secundaria del tumor pueden ocasionar la extracción de material y la hechura de un frotis que contenga pocas células de carcinoma, cuya identificación a veces resulta difícil. El adenocarcinoma endocervical presenta un problema en particular para el diagnóstico citológico, porque es muy difícil la diferenciación citológica entre la forma hiperplásica y el adenocarcinoma endocervical bien diferenciado. Por esa razón, hay que tomar material de biopsia siempre que haya la sospecha clínica importante de un cáncer, a pesar de los resultados negativos del estudio citológico. Es raro el diagnóstico "exagerado" de neoplasia intraepitelial cervical, o cáncer, con base en el frotis cervical. El

diagnóstico citológico es evaluado constantemente y confirmado por colposcopia y por correlación con una biopsia histológica.

2.9.3. FROTIS NORMAL

Las grandes variaciones en la imagen microscópica de un frotis normal de material cervical explican en gran parte la necesidad de preparación especial y experiencia que se necesita de los especialistas en esta rama de la medicina. Las células epiteliales escamosas (planas) del ectocérvix y capas de células endocervicales cilíndricas aparecen entre células inflamatorias, microorganismos y a veces espermatozoides. No es raro que la espátula ocasione moderada hemorragia que se advierte en el frotis.

Después de la tinción con el método de Papanicolaou el citólogo estudia los elementos epiteliales. El aspecto de las células epiteliales escamosas del ectocérvix sensibles a las hormonas, depende de las cantidades relativas de estrógenos y progesterona circulantes. Los primeros estimulan la maduración, de modo que la superficie raspada del epitelio comprenderá células de tipo superficial e intermedia (ver figuras), en tanto que el estrógeno y la progesterona (o la progesterona sola) producen un epitelio un poco menos maduro, cuya superficie consiste casi por entero en células escamosas de tipo intermedio. De no haber estimulación por hormonas ováricas, el epitelio escamoso es relativamente delgado y atrófico, y la imagen citológica está dominada por las células escamosas de tipo parabasal (ver figura). En casi todos los frotis que incluyen leucocitos y cambios reactivos en las células epiteliales, hay signos citológicos de inflamación.

Células escamosas superficiales. Corresponden a la capa más externa del epitelio. Miden entre 40–50 μm . Son poliédricas, planas, con citoplasma claro eosinofílico con bordes bien definidos. Pueden contener pequeños gránulos basofílicos de queratohialina. El núcleo es pequeño, redondo, picnótico homogéneo, mide entre 3 y 5 μm . No se ve la red cromatínica. Esta característica permite diferenciarla de una intermedia. Algunos autores sugieren un criterio de núcleo métrico: Todo núcleo con diámetro menor de 6 μm , debería llamarse núcleo picnótico.

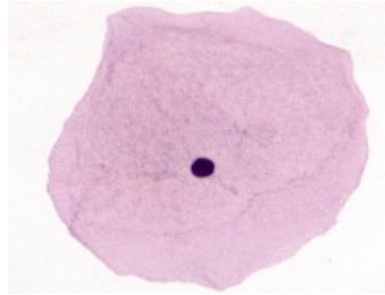


FIGURA 10. CELULA ESCAMOSA SUPERFICIAL

Células escamosas intermedias. Células grandes con un tamaño aproximado de 50 μm poligonales, con citoplasma transparente, usualmente cianofílico. Su núcleo ovalado tiene un diámetro entre 8–10 μm , está centralmente ubicado con un patrón de cromatina fino homogéneo, y su membrana nuclear está claramente definida.

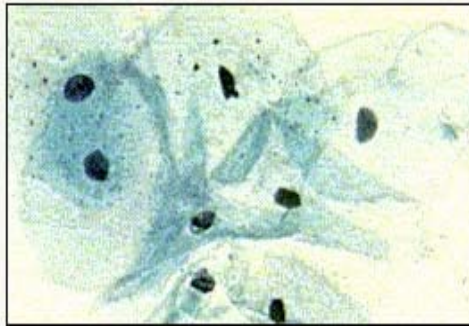


FIGURA 11. CELULA ESCAMOSA INTERMEDIA

Células escamosas parabasales. Son células pequeñas con medidas entre 12–30 μm . Su citoplasma es opaco, basofílico y puede mostrar vacuolización. Tiene un núcleo redondo vesicular, con un radio núcleo/citoplasma alto.

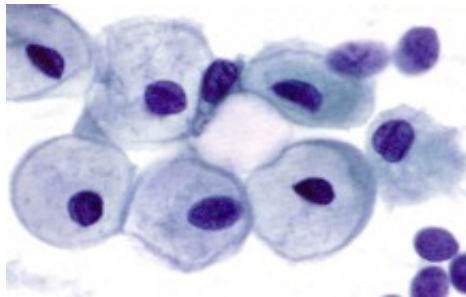


FIGURA 12. CELULA ESCAMOSA PARABASAL

Para la evaluación tanto de actividad biológica y funcional de las células se deben tener en cuenta los siguientes parámetros:

- Núcleo.
- Nucleolo.

- Cromatina.
- Borde cromatínico y membrana nuclear.
- Red de cromatina.
- Paracromatina.
- Mitosis.
- Multinucleación.
- Radio núcleo/citoplasma.
- Coloración del citoplasma

2.9.3.1. CRITERIOS GENERALES DE IDENTIFICACIÓN

El criterio general para identificar los tipos de células que corresponden al epitelio estratificado del cérvix es como sigue:

2.9.3.1.1. CRITERIO GENERAL PARA LA IDENTIFICACIÓN DE CÉLULAS BASALES.

Estructura del núcleo: En las células bien preservadas, las finas partículas de cromatina están regularmente dispuestas. En las células degeneradas la cromatina se condensa en el borde nuclear, en numerosas masas amorfas (cariorrexis) o en una sola picnosis.

Posición del Núcleo: Usualmente central, puede ser algo excéntrico.

Relación del núcleo a la pared celular: el núcleo y los bordes celulares son bien diferenciales en todos sus puntos. El núcleo se halla siempre rodeado de citoplasma. “En general, ocupa una posición característica y constante

para cada tipo de célula. El tamaño del núcleo guarda relación con el volumen citoplasmático.”

Apariencia del Citoplasma: Delgado, abundante.

Forma Celular: Oval o redondeada, ocasionalmente alargada. Nunca poligonal.

2.9.3.1.2. CRITERIO GENERAL PARA LA IDENTIFICACIÓN DE CÉLULAS INTERMEDIAS.

Estructura del núcleo: En las células bien preservadas pueden identificarse finas partículas individualizadas de cromatina.

Posición del Núcleo: Central.

Apariencia del Citoplasma: Delgado, abundante.

Forma Celular: Tendencia al aspecto poligonal. Ni Redonda, ni oval. De bordes o ángulos bien definidos.

2.9.3.1.3. CRITERIO GENERAL PARA LA IDENTIFICACIÓN DE CÉLULAS SUPERFICIALES

Estructura del núcleo: Oscuro, hipercromático y homogéneo. No se observa partículas individualizadas de cromatina, indicando una completa picnosis. La picnosis del núcleo distingue la célula superficial de la célula intermedia.

Posición del Núcleo: Central.

Apariencia del Citoplasma: Delgado, abundante.

Forma Celular: Tendencia al aspecto poligonal. Ni Redonda, ni oval. De bordes bien definidos.

La distinción entre una capa interna de células basales y la externa, estriba en que la distancia del borde nuclear al celular es menor que el diámetro máximo del núcleo, en el caso de la capa de células basales internas y mayor en la capa externa.

2.9.4 FROTIS ANORMAL

Las anomalías del cuello uterino se manifestarán en el cuadro citopatológico (del frotis), sólo si las células de la superficie epitelial son anormales. Por esa razón, la hiperplasia de células basales del epitelio escamoso no se manifestará en la extensión pero la hiperqueratosis se identificará por la presencia de "escamas" queratinizadas y sin núcleo, en el frotis. De manera semejante, el epitelio escamoso metaplásico maduro de la zona de transformación es de hecho idéntico al que aparece en el frotis del epitelio escamoso original del ectocérvix, pero a veces se identifica la metaplasia escamosa inmadura, en la cual las células superficiales no están del todo diferenciadas.

Las anomalías del cuello identificadas en un frotis pueden dividirse en las que son definitivamente benignas y en las que, según se sabe, poseen capacidad cancerígena. Las primeras tienen importancia en el frotis de material cervical, si influyen y menoscaban su "confiabilidad" para identificar

neoplasia intraepitelial cervical, o si se sabe que el cuadro se acompaña a este último problema, como en el caso del virus de papiloma humano. Habrá que considerar los cambios inflamatorios intensos en las células epiteliales, porque a veces llegan a tener una. Imagen que se acerca a la de la neoplasia intraepitelial. Lacervicitis por *Tri-chomonas vaginalis*, *Candida* u otros organismos, ocasiona cambios degenerativos y regenerativos en las células epiteliales y el epitelio atrófico de la pos-menopáusica a menudo incluye cambios inflamatorios intensos. Los cuadros antes citados son parte de una gama continua de cambios nucleares que van desde alteraciones mínimas o intensas de tipo inflamatorio, hasta la discariosis (término utilizado para las células con características nucleares malignas, que derivan de la neoplasia intraepitelial cervical, displasia y carcinoma in situ). Existen algunas diferencias netas entre los cambios inflamatorios benignos en el núcleo y la discariosis mínima, pero hay algunos frotis en los que esta diferencia no es tan tajante, y el citólogo necesitará más visitas y toma de nuevo material hasta que en un plazo pertinente se resuelva el problema diagnóstico.

2.10. DIFICULTADES EN EL DIAGNOSTICO CITOLOGICO

En la actualidad se acepta sin reservas la exactitud en la predicción de anomalías del epitelio del cuello uterino, con el uso de muestras de células superficiales. El diagnóstico citológico depende del análisis de una muestra de tejido más bien pequeña, que ante los ojos del operador aparece como un conjunto desordenado de células. Inevitablemente habrá algunos aspectos de incertidumbre, entre los cuales se han comentado los problemas de obtener muestras de cánceres clínicos y las dificultades de interpretación con

que a veces se topa el citólogo en el caso del carcinoma escamoso invasor y el adenocarcinoma endocervical. La correlación de los datos de las biopsias del cuello con los frotis debe ser precisa, salvo las variaciones pequeñas que pueden explicarse por diferencias de muestreo o de interpretación.

Estas diferencias no deben afectar de manera grave el tratamiento de la mujer, y las de mayor importancia por lo regular se resuelven por una revisión del informe o del cuadro citológico o al hacer un "corte" a nuevos niveles de los bloques citológicos. Es raro que un estudio citológico genere resultados falsamente positivos, y en caso de suceder habrá que emprender una investigación minuciosa, en alguna situación en que el especialista no haya podido detectar una lesión maligna. En la práctica de la ginecología y la citología se sabe que no es raro que una anormalidad muy intensa pueda detectarse cuando se estudia a la mujer, y un ginecólogo experto extrae la muestra para el frotis o cuando se examina el cuello uterino con un colposcopio, el cual revelará con mayor nitidez la anormalidad que, como se observó en el primer frotis hecho por manos menos expertas, no hubo sospecha de trastorno. Todo lo anterior ilustra la importancia de la buena técnica en la obtención de las muestras.

La reacción celular al tratamiento a veces ocasiona problemas de interpretación en el frotis, y es esencial señalar al citólogo la terapéutica a que se ha sometido a la mujer. La conización y biopsia y el tratamiento destructivo local de lesiones intraepiteliales a veces ocasionan cambios celulares de índole regenerativa, que se identifican con facilidad. Los citólogos conocen muy bien los cambios causados por la radiación ionizante y pueden diferenciarlos del tumor residual o recurrente. Sin embargo, la administración de citotóxicos

puede inducir anormalidades citológicas que a veces son prácticamente idénticas a las de las células tumorales. Los problemas anteriores han aparecido con mayor frecuencia con los resultados cada vez mejores y con la complejidad del tratamiento oncológico, y por la supervivencia resultante de las mujeres, que necesitan supervisión a largo plazo.

2.11. ERRORES DE LA CITOLOGÍA CERVICOVAGINAL

Ninguna otra prueba ha tenido tanto éxito en la erradicación de un cáncer como la citología cervicovaginal. Sin embargo, no es una prueba infalible. En teoría el carcinoma cervical es precedido por un largo pródromo de enfermedad preinvasiva que puede ser detectada y tratada. En la práctica, aunque existe una marcada reducción en el cáncer cervical, la enfermedad no ha sido erradicada en poblaciones con un buen sistema de cribado.

Factores implicados en los errores

- Relacionados con la paciente: No acudir a la cita anual suele ser habitual. También influyen la preparación previa a la realización de la prueba (ducha y coito recientes pueden eliminar por fricción las capas celulares superficiales y aumentar, por tanto, el número de falsos negativos).
- Clínicos: Defecto de la realización de la toma y defecto del seguimiento evolutivo de la paciente.
- Instrumentación y modo de realización de la muestra: Debe de existir un buen número de células de las 3 zonas (vagina, ectocérvix y endocérvix) y bien extendidas.

- Errores en los diagnósticos y de citopreparación.

2.12. CRITERIOS DE MALIGNIDAD

Los siguientes son los criterios más utilizados por los citólogos para una valoración neoplásica. La figura 19 exhibe varias muestras con algunos de estos criterios.

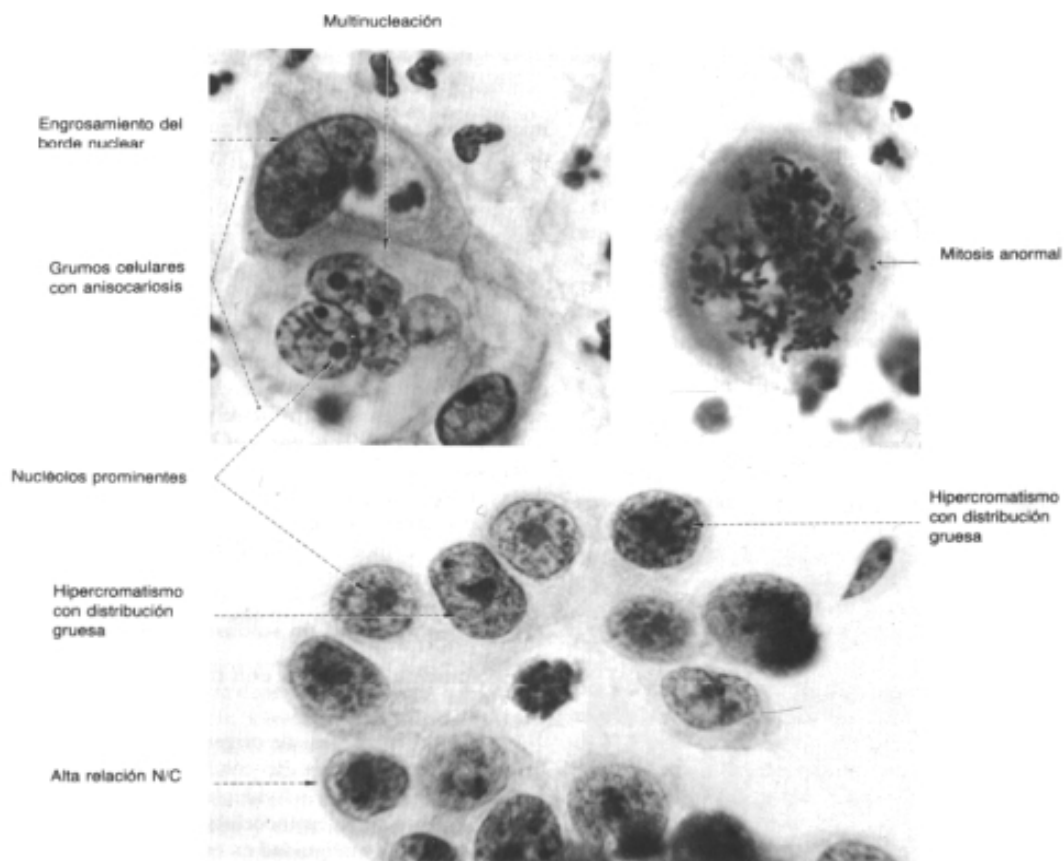


FIGURA 13. RASGOS DISTINTIVOS DE MALIGNIDAD

2.12.1. AUMENTO DE LA RELACIÓN NUCLEAR-CITOPLASMÁTICA

La relación entre el volumen nuclear y el citoplasmático se mantiene dentro de límites constantes en las células normales. El aumento del componente nuclear de esta relación [4] es uno de los rasgos más distintivos de malignidad, esto es, una alteración del cociente núcleo : citoplasma, habitualmente 1:4 a 1:6, llegando casi a 1:1 [10]. La relación nuclear-citoplasmática (relación N/C) no sólo es valiosa para distinguir malignidad, sino que da la pauta del grado de diferenciación de la célula cancerosa; cuanto menos diferenciadas son las células cancerosas, mayor es la relación N/C.

Puede ocurrir agrandamiento nuclear en células no malignas por irradiación, administración de agentes alquilantes, inflamación, metaplasia y regeneración; pero en estos estados las células no malignas exhiben un aumento de tamaño general y conservan la relación N/C dentro de límites benignos, de modo que se las puede diferenciar de las células malignas sin mayores dificultades.

2.12.2. HIPERCROMATISMO DEL NÚCLEO

Koss [11], define el término “hipercromatismo” como una tinción perceptiblemente más oscura de los núcleos a la microscopia óptica, de modo que esto significa mayor concentración de ADN y mayor tingibilidad de sustancias basófilas (heterocromatina) en los núcleos en lugar de un simple aumento del ADN. Los núcleos hipercrómicos grandes suelen ser poliploides y hacen el diagnóstico de malignidad. De acuerdo con estudios

espectrofotometritos, las células malignas en división activa no sólo contienen más ADN, sino que éste se halla ampliamente distribuido [7]. Las mayores cantidades de ADN son las causantes de la hiper Cromía para los colorantes básicos como verde de metilo³5.356 y azul de metileno.

2.12.3. AGLOMERACIÓN GRANULAR GRUESA DE CROMATINA

Además del hiper Cromatismo, la cromatina exhibe una distribución granular gruesa o en riendas gruesas e irregulares. Las aglomeraciones granulares de cromatina, que se definen como cromocentros, predominan más en las células malignas que en las benignas. El espacio comprendido entre los grumos gruesos parece libre de partículas de cromatina. Las cromatinas asociadas con el nucléolo también aparecen en mayor cantidad y son más grandes, paralelamente al agrandamiento y multiplicación de los nucléolos.

2.12.4. IRREGULARIDAD Y ENGROSAMIENTO DEL BORDE NUCLEAR.

El borde del núcleo, que se solía llamar membrana nuclear, se engruesa y adquiere un contorno irregular. Con el microscopio electrónico se observan invaginaciones irregulares o indentaciones del borde nuclear. Recuérdese que la membrana nuclear se engruesa por condensación de cromatina en el borde del núcleo como signo incipiente de degeneración celular.

2.12.5. AUMENTO DEL TAMAÑO.

Todo agrandamiento del nucléolo en más de 5μ , de diámetro es muy sugestivo de malignidad. La relación nucleolar-nuclear está aumentada; el agrandamiento nucleolar se asocia con la síntesis de ARN y proteína. En la neoplasia maligna este aumento de tamaño también se debe a un bloqueo del transporte de los productos nucleolares al citoplasma. Desde el punto de vista funcional del ciclo celular, los nucléolos observados con el microscopio óptico en la fase intermitótica pueden ser menos numerosos y destacarse más por fusión, en comparación con los que se ven justo después de la telofase, cuando los nucléolos reaparecen. La cantidad de nucléolos está dada por la cantidad de organizadores nucleolares que hay en los cromosomas. Los nucléolos múltiples son atribuibles a la poliploidia; en teoría, la presencia de más nucléolos que los cinco juegos normales de organizadores nucleolares, significaría malignidad.

2.12.6. MULTINUCLEACIÓN Y MULTILOBULACIÓN.

La multiplicación y pronunciada indentación o plegamiento de los núcleos se deben a mitosis anormales: un buen ejemplo es la formación de células gigantes por endorreduplicación, pero recuérdese que también ocurre multinucleación en células benignas como las columnares de los bronquios o endocérvix, y los histiocitos. La diferenciación entre multinucleación maligna y, benigna debe basarse en la alta relación nuclear-citoplasmática, en la mayor cantidad de material cromático y en la irregularidad de su distribución, todo lo cual es característico de malignidad. En la multinucleación benigna los núcleos son de tamaño y forma uniformes y de igual contenido de cromatina.

2.12.7. AGLOMERACIÓN CELULAR CON PLEOMORFISMO.

Las células cancerosas de origen epitelial tienden a exfoliarse formando grumos de células, aunque es frecuente encontrar como células individuales más o menos degeneradas las del carcinoma espinocelular [12]. Uno de los rasgos más característicos de malignidad en estas aglomeraciones celulares son las pronunciadas variaciones de tamaño y forma de los núcleos.

Addendum. Variaciones de tamaño y de forma del núcleo y del citoplasma. Estos son criterios muy notorios de malignidad. Hasta las células atípicas benignas pueden acompañarse de agrandamiento nuclear, prominencia del nucléolo e hipercromatismo de los núcleos, que son muy frecuentes en las neoplasias malignas, pero comparando las células malignas entre ellas se reconocen grandes variaciones de tamaño y forma en los núcleos y en el citoplasma.

2.13. CLASIFICACIÓN DE LA LESIÓN

La intensidad de las alteraciones nucleares, la relación núcleo / citoplasma y las características citoplasmáticas nos permitirán clasificar la lesión por la presencia de células alteradas y el grado de anormalidad [25], en otras palabras, el sistema de displasia y NIC [29]. Este no es el único método de descripción; está el sistema de clasificación de Papanicolau y el reciente sistema BETHESDA. En la última parte de esta sección se presenta un cuadro comparativo de los tres sistemas.

2.14. RESULTADOS ANORMALES

Resultados anormales son cuando el informe del laboratorio indica que las células son diferentes de las células de una cervix sana.

Sistema clásico. El método clásico para describir una anomalía en la escala del 1 al 5 es el siguiente:

- Normal.
- Atípico (zona gris).
- Displasia (pre-cancerígeno).
- Carcinoma in situ (cáncer no invasivo).
- Cáncer invasivo

Sistema de Displasia y NIC. La citología también puede describirse de cómo displasia leve, moderada y severa y carcinoma "in situ" [16]; es de anotar que la NIC comienza siempre en la unión cilindro-escamosa, en la zona de transformación [10]. A continuación se mencionan las escalas de este sistema y se describe las NIC o CIN.

- Normal.
- Atípica.
- Displasia de bajo grado, (NIC I).
- Displasia de alto grado y (NIC II / III).
- Cáncer (CIS).

NIC I => Atipia coilocítica (efecto citopático del virus representado por los marcados halos perinucleares) con escasas alteraciones en las otras células del epitelio.

NIC II => Aparición de células atípicas en las capas inferiores del epitelio escamoso, pero con una diferenciación persistente (aunque anormal) hacia las capas de células espinosas y queratinizadas. Las células atípicas muestran: alteraciones del cociente núcleo-citoplasma, variaciones en el tamaño de los núcleos (anisocariosis), pérdida de la polaridad, aumento de las figuras mitóticas con mitosis anormales e hiperchromasia; en otras palabras, adquieren algunas de las características de las células malignas. Estos cambios se han asociado a poblaciones de células aneuploides y guardan mucha relación con los tipos de alto riesgo del virus del papiloma humano, reflejando probablemente los cambios precoces asociados a los oncogenes virales de estos virus.

NIC III => A medida que la lesión avanza, hay una pérdida progresiva de la diferenciación que afecta a más y más capas del epitelio, hasta que éste queda sustituido por células atípicas inmaduras que no muestran ninguna diferenciación en superficie.

Sistema BETHESDA. En 1989, el taller del *National Cancer Institute* (NCI, Instituto Nacional de Cáncer de Estado Unidos), realizado en Bethesda, Maryland, dio por resultado el desarrollo del Sistema Bethesda para notificación citológica. En este sistema, las lesiones potencialmente premalignas corresponden a tres categorías y a una cuarta que ya es cáncer, así:

- ASCUS: Células atípicas de dudosa significación
- LGSIL : Cambios de bajo grado (\pm NIC I y cambios por infección por HPV)
- HGSIL : Lesión de alto grado (\pm NIC II / III)
- Cáncer

La anterior clasificación llevada al español nos entrega :

- *Células escamosas atípicas de importancia no determinada (CEAIND).*
- *Lesiones intraepiteliales escamosas de grado bajo (LIEGB).*
- *Lesiones intraepiteliales escamosas de grado elevado (LIEGE).*

La lesión intraepitelial escamosa de grado bajo incluye a NIC 1 (displasia leve); por su parte, las lesiones intraepiteliales escamosas de grado elevado abarcan a las NIC 2 y 3 (displasia moderada, displasia grave y carcinoma “*in situ*”. Observe la figura 20.

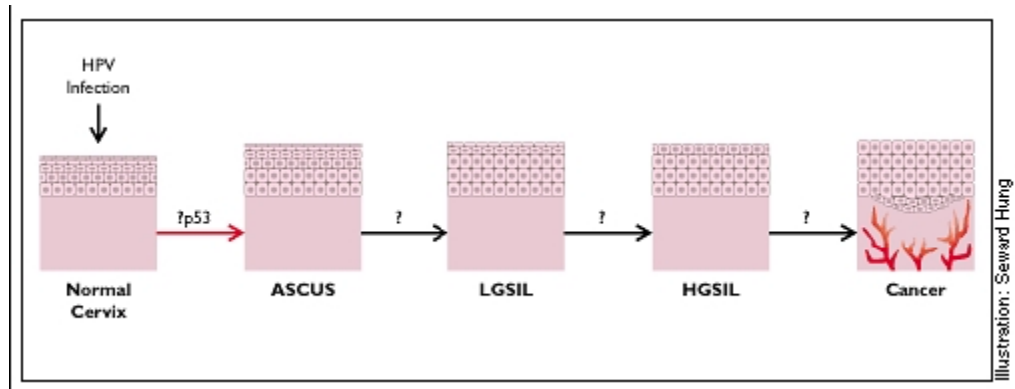


FIGURA 14. ALTERACIONES CELULARES REGISTRADAS POR EL SISTEMA BETHESDA

Comparación de los sistemas de clasificación citológica		
Sistema Bethesda	Sistema de displasia y NCI	Sistema de Papanicolaou
Dentro de límites normales	Normal	I
Infección (debe especificarse el microorganismo) Cambios reactivos y de reparación Anomalías de células escamosas	Atipia inflamatoria (microorganismo)	II
Células escamosas escamosa importancia no determinada	Atipia de Atipia	IIR
Lesión intraepitelial escamosa de grado bajo (LIEGB)	Atipia por PVH Displasia leve NCI 1 Displasia moderada NCI 2	III
Lesión intraepitelial escamosa de grado elevado (LIEGE)	Displasia grave NCI 3 Carcinoma <i>in situ</i>	IV
Carcinoma de células escamosas	Carcinoma de células escamosas	V

FIGURA 15. CUADRO COMPARATIVO DE LOS SISTEMAS DE CLASIFICACIÓN CITOLÓGICA.

3. TRATAMIENTO DIGITAL DE IMÁGENES

3.1. FUNDAMENTOS

El sistema de visión humano nos permite percibir y comprender el mundo que nos rodea y nos suministra más de un 70% de la información total (imágenes, sonidos, sensaciones, etc.) que recibimos. Las escenas que percibimos suelen ser tridimensionales (3D) y cuando las capturamos mediante dispositivos (cámaras fotográficas o de vídeo, pantallas de rayos X, etc.) obtenemos imágenes bidimensionales (2D). Esta proyección a una dimensión inferior supone una gran pérdida de información. Por ello, dotar a los ordenadores de la capacidad de ver no es una tarea fácil. Las escenas dinámicas donde aparecen objetos en movimiento complican más todavía la visión por ordenador. Además, el análisis y la interpretación de muchas imágenes suele requerir un conocimiento amplio de la materia de la que trata la imagen. Por ejemplo, es difícil analizar e interpretar una imagen que muestre la capa de ozono sobre la Antártica enviada por un satélite. La conclusión cualitativa de que hay una tendencia a la disminución de la capa de ozono deducida a partir de los cambios de color en imágenes sucesivas no es tan simple y mucho menos la conclusión cuantitativa sobre cuánto está disminuyendo.

Los sistemas análogos demandan elementos de hardware que son costosos y en algunos casos difíciles de implementar. A través del procesamiento digital de imágenes es posible realizar filtrado de señales, cuantificar características de las señales o imágenes, automatizar procesos, guardar información en bases de datos, entre otras, sin necesidad de elementos de

hardware que se reemplazan por herramientas computacionales brindando mayor versatilidad y confianza.

En los últimos años el Procesamiento Digital de Imágenes (PDI) ha sido ampliamente utilizado por diversas disciplinas tales como: Medicina, Biología, Física e Ingeniería. Mediante el Procesamiento Digital de Imágenes es posible manipular imágenes digitales en un computador con el fin de obtener información objetiva de la escena captada por una cámara. Son dos las tareas fundamentales del Procesamiento Digital de Imágenes:

- Mejoramiento de una imagen digital con fines interpretativos
- Toma de decisiones de manera automática de acuerdo al contenido de la imagen digital

Las señales y las imágenes requieren ser procesadas para facilitar su interpretación o realizar tareas específicas. En el caso de las imágenes médicas existe una necesidad de proponer nuevas formas para procesar y manipular imágenes, software para mejorar la planeación de cirugías o para facilitar el intercambio de imágenes en intranet de hospitales y sistemas de telemedicina.

La expansión del uso de estas herramientas en los últimos años en las diversas áreas del conocimiento es notable. Esto se debe principalmente a la disminución de los costos y a la permanente evolución de los equipos necesarios.

Como aplicaciones típicas se puede mencionar: detección de presencia de objetos, inspección visual automática, medición de características geométricas y de color de objetos, clasificación de objetos, restauración de imágenes y mejoramiento de la calidad de las imágenes.

Hay diferentes tipos de imágenes según el dispositivo utilizado para la formación de la imagen:

- Imágenes formadas mediante la *luz visible*, es decir, la luz cuya longitud de onda oscila entre 350 y 700 nanómetros, que corresponden a las imágenes capturadas por una cámara fotográfica, de vídeo o de TV.
- Imágenes formadas por *rayos infrarrojos*, que permiten la visión nocturna.
- Imágenes formadas por *rayos ultravioleta*, como **espectrogramas** (fotografía de un espectro luminoso obtenida mediante un espectrógrafo, sobre placa de cristal o película sensible).
- Imágenes formadas a partir de *campos magnéticos*, como la **resonancia magnética** utiliza un potente campo magnético para obtener imágenes detalladas del corazón o del tórax. Se coloca a la persona dentro de un gran electroimán que causa una vibración de los núcleos de los átomos del organismo, produciendo unas señales características que son convertidas en imágenes.
- Imágenes formadas a partir de *ultrasonidos*, como la **ecografía**, que forma una imagen por la reflexión de las ondas sonoras con determinadas partes del cuerpo. El **ecocardiograma**, que utiliza ondas ultrasonoras de alta frecuencia que chocan contra las estructuras del corazón y de los vasos sanguíneos y, al rebotar, producen una imagen móvil que aparece en una pantalla de vídeo.
- Imágenes formadas a partir de una radiación de *rayos X*, como las **radiografías** de tórax o la **radioscopia** (fluoroscopia) que es una exploración continua con rayos X que muestra en una pantalla el movimiento del corazón y los pulmones. La tomografía computarizada que crea imágenes transversales de todo el tórax utilizando los rayos X y muestra la ubicación exacta de las anomalías (permite obtener una imagen tridimensional móvil del corazón). La **angiografía** muestra con

detalle el aporte de sangre, por ejemplo, a los pulmones (se inyecta un líquido radiopaco dentro de un vaso sanguíneo que puede verse en las radiografías) o al cerebro. Detecta anomalías vasculares como la obstrucción de un vaso sanguíneo (ictus), aneurismas (bolsas en una arteria) o arteritis (inflamaciones).

- Imágenes formadas a partir de *impulsos eléctricos*, como el **electrocardiograma**, que amplifica los impulsos eléctricos del corazón y se registran en un papel en movimiento. El **electroencefalograma** es una imagen formada a partir de los impulsos eléctricos de 20 alambres (electrodos) colocados sobre el cuero cabelludo con el objeto de establecer el trazado y registro eléctrico de la actividad cerebral.
- Imágenes formadas a partir de *isótopos radiactivos* (indicadores o trazadores). Los indicadores se reparten por todo el cuerpo y se detectan con una gammacámara (detección de coágulos de sangre en los pulmones). En la técnica de **tomografía computarizada** por emisión de fotones simples, distintos tipos de cámaras de registro de radiaciones pueden grabar una imagen simple o producir una serie de imágenes de secciones transversales amplificadas por el ordenador. En las imágenes formadas por *emisión de positrones*, como la **tomografía por emisión de positrones**, se inyecta una sustancia en la sangre que se desplaza hasta las estructuras cerebrales, permitiendo medir la actividad que desarrolla el cerebro. También permite analizar, por ejemplo, el funcionamiento del corazón.

3.2. CONCEPTOS BASICOS

3.2.1. DEFINICION DE IMAGEN

Cualquiera de estas imágenes se puede modelar por una función continua de dos o tres variables. En el caso de imágenes estáticas los dos argumentos de la función son las coordenadas (x,y) del plano cartesiano, mientras que si las imágenes van cambiando en el tiempo (dinámicas) necesitamos una tercera coordenada t que nos especifica el tiempo. Los valores de la función corresponden a la luminosidad, brillo o intensidad de la radiación de los puntos de la imagen. También pueden representar temperatura, presión, distancia al observador, etc.

f

punto de la imagen $\equiv (x, y, t)$ \longrightarrow $f(x, y, t) \equiv$ intensidad luminosa

Una función continua tiene el dominio y el rango continuo; una función discreta tiene el dominio discreto y la **función digital** tiene tanto el dominio como el rango discretos.

Una imagen 2D es el resultado de una **proyección** de una escena 3D. Un punto de la escena 3D viene representado por su proyección en el plano imagen. Así, el punto $P=(x,y,z)$ se proyecta en el punto $P'=(x',y',f)$ cuyas coordenadas vienen dadas por las expresiones:

$$x' = \frac{xf}{z}, \quad y' = \frac{yf}{z}$$

que se obtienen directamente del teorema de Tales.

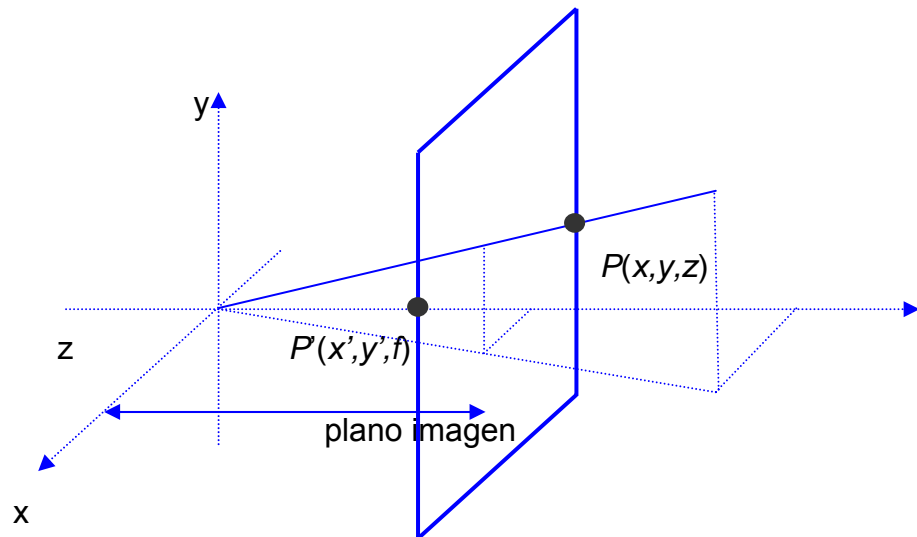


FIGURA 16. PROYECCION SOBRE EL PLANO IMAGEN

3.2.2. DEFINICION DE PIXEL

Un **pixel** de una imagen digitalizada es un punto del dominio de la función digital correspondiente que tiene asociado el valor de dicha función y cuya posición viene determinada por sus coordenadas (x, y) . En el análisis de imágenes juegan un papel importante los píxeles de un entorno (píxel

próximos) de cada píxel. Por ello, es necesario definir una función distancia entre píxeles.

La **distancia Euclídea** entre los píxeles (i, j) y (h, k) viene dada por la expresión:

$$D_E[(i, j), (h, k)] = \sqrt{(h-i)^2 + (k-j)^2}$$

La **distancia rectangular** entre los píxeles (i, j) y (h, k) viene dada por la expresión:

$$D_4[(i,j), (h,k)] = |h-i| + |k-j|$$

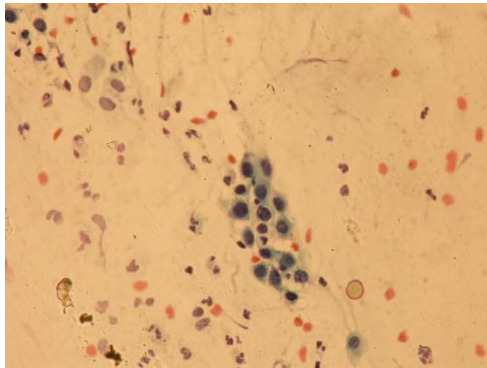
Si se permiten movimientos en diagonal, como en el tablero de ajedrez, la distancia entre los píxeles (i,j) y (h,k) viene dada por la expresión:

$$D_8[(i,j), (h,k)] = \max\{|h-i|, |k-j|\},$$

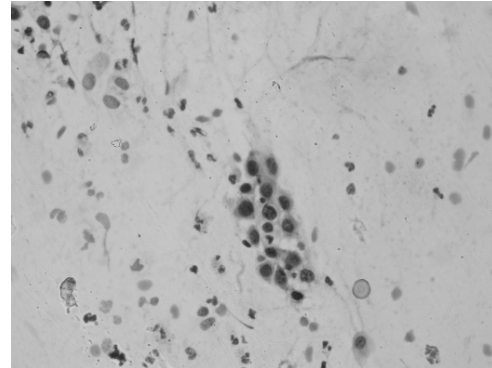
y se llama distancia de Tchebychev o del tablero de ajedrez.

En una **imagen monocromática** (en blanco y negro o en tonos de gris) el rango de f tiene un valor mínimo (negro) y un valor máximo (blanco). Si se trata de una imagen digital el rango viene dado por un conjunto finito de valores, como puede ser el conjunto $\{0, 1, \dots, L-1, L\}$, donde el 0 corresponde al negro y el valor L a blanco. En este caso diremos que la imagen tiene $L+1$ niveles o **tonos de gris**. El dominio de la función digital es también una región acotada del plano, D , de la forma:

$$D = \{ (x, y): x=1,2,\dots,M, y=1,2,\dots,N \}.$$



(a)



(b)

FIGURA 17. En la figura (a) se muestra una imagen RGB y en la figura (b) se muestra una imagen monocromática que corresponde a un grupo de células correspondientes a NICII (región de interés).

Por lo tanto, una imagen digital monocromática viene dada por una matriz f de tamaño $M \times N$:

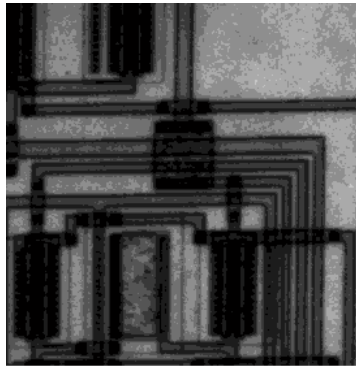
$$f = \begin{bmatrix} f(1,1) & f(1,2) & \dots & f(1,N) \\ f(2,1) & f(2,2) & \dots & f(2,N) \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ f(M,1) & f(M,2) & \dots & f(M,N) \end{bmatrix}$$

Cada uno de sus elementos se llama *píxel* (picture element) o *pel* y $f(m, n)$ nos da el tono de gris del píxel que ocupa la posición (m, n) .

La **resolución espacial** viene dada por la proximidad de la muestras de la imagen en el plano imagen. En el caso de imágenes digitalizadas es el número de puntos del dominio de la imagen, es decir, $M \times N$. La **resolución espectral** viene dada por el ancho de banda de las frecuencias de la radiación luminosa capturadas por el sensor. La **resolución radiométrica** (o profundidad) viene dada por el número de niveles o tonos de gris

distinguibles y la **resolución temporal** viene dada por el intervalo de tiempo entre muestras consecutivas en las que la imagen se captura.

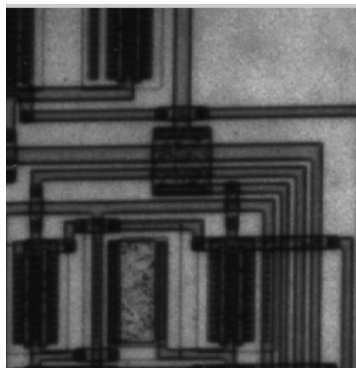
En la figura 3(a) se muestra una imagen con resolución espacial (tamaño) 280×272 y con 256 tonos de gris (resolución radiométrica); en la figura 3(b) se muestra dicha imagen con una resolución espacial de 28×72 píxeles y 256 tonos de gris; en la figura 3(d) se muestra una ampliación de la imagen 3(b) para apreciar la pérdida de calidad y en la figura 3(c) se muestra la imagen con una resolución espacial de 280×272 píxeles y sólo 10 tonos de gris.



(a)



(b)



(c)



(d)

FIGURA 18. (a) Imagen de un circuito con 280×272 píxeles y 256 tonos de gris. (b) Imagen de un circuito con una resolución espacial de sólo 28×27 píxeles y 256 tonos de gris. (c) Imagen de un circuito con 280×272 píxeles y sólo 10 tonos de gris. (d) Imagen (b) ampliada.

3.2.3. COLOR

El **color** es una propiedad de gran importancia en la percepción visual humana. El color está asociado con la capacidad de los objetos de reflejar ondas electromagnéticas de diferente longitud de onda. El ser humano detecta los colores como combinaciones de tres colores primarios, el rojo, el verde y el azul. Las pantallas de nuestros ordenadores suelen utilizar el modelo **RGB** (red-green-blue), donde cada píxel tiene asociado un vector tridimensional (r,g,b) que nos conduce a un color determinado; el vector $(0,0,0)$ es el negro, (L,L,L) es el blanco, $(L,0,0)$ es el rojo “puro”, y así sucesivamente (ver la figura 3). Esto implica que tenemos L^3 colores diferentes que no todos serán albergados por el dispositivo, por lo que es común especificar un subconjunto de estos, llamado **paleta** de colores.

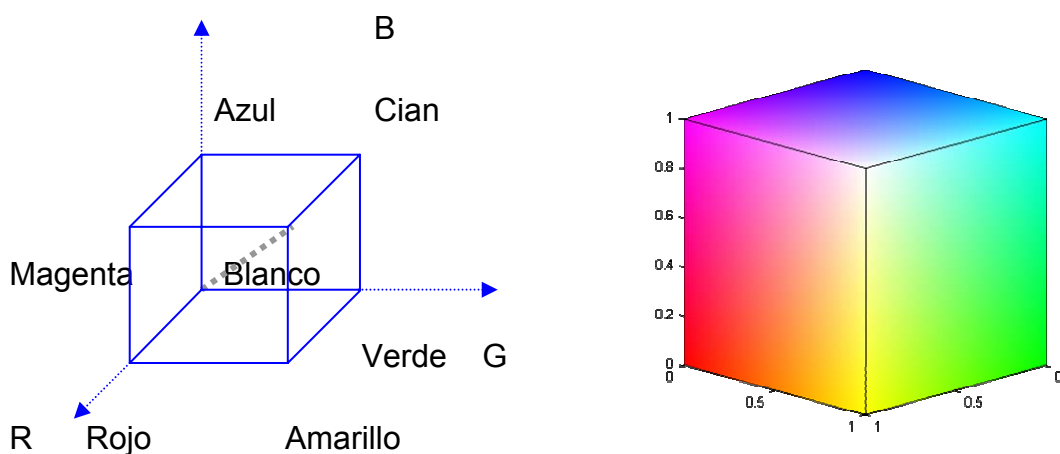
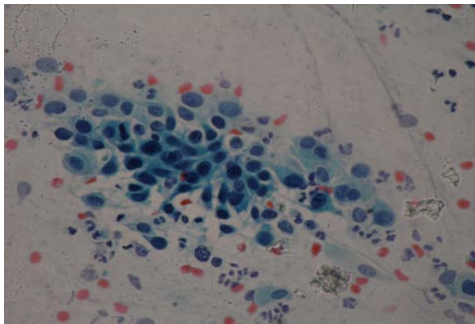


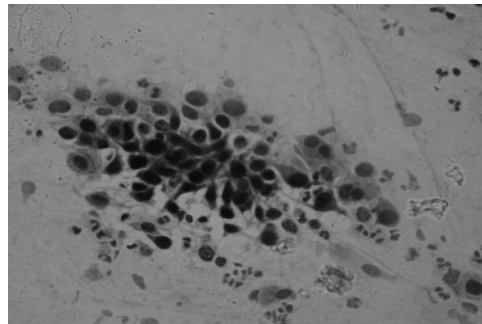
Figura 19. Espacio de colores RGB.

Los colores rojo, verde y azul, que corresponde a vértices de cubo son los *colores primarios* de la luz y los colores cian, magenta y amarillo de los otros tres vértices son los *colores secundarios*.

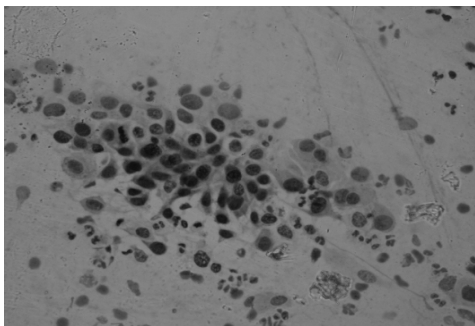
Una **imagen de color** RGB viene definida por tres matrices de tamaño $M \times N$, de manera que cada píxel corresponde a una posición específica en las mismas y tiene asociado una tripleta de valores, (r, g, b) , que indican la tonalidad corresponde a cada uno de los colores rojo, verde y azul. La primera matriz nos da la componente roja, la segunda la componente verde y la tercera la componente azul. En la figura 4 se muestran las tres componentes de una imagen en color.



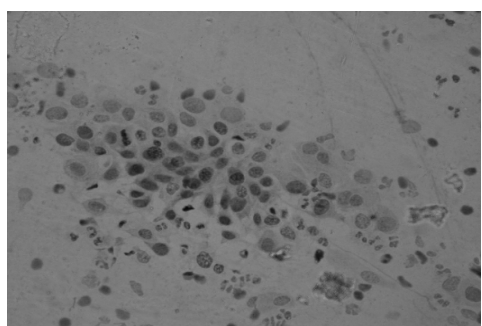
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 20. (a) Imagen en color. (b) Componente roja. (c) Componente verde. (d) Componente azul.

Cuando se da como entrada a un monitor estas tres matrices (imágenes monocromáticas) se genera la imagen en color. Por lo tanto, una imagen en color viene dada por una función vectorial de la forma.

$$f(x,y) = (f_1(x,y), f_2(x,y), f_3(x,y))$$

donde cada componente corresponde a un color determinado.

También se puede representar una imagen mediante dos componentes: una matriz X de tamaño $M \times N$ constituida por valores enteros del conjunto $\{1, 2, \dots, p\}$ y una matriz, llamada *mapa de colores*, de tamaño $p \times 3$, constituida por valores reales del intervalo $[0, 1]$. El número p nos da el número de colores diferentes a utilizar. Cada fila de la matriz mapa de colores especifica la componente roja, verde y azul de un color específico. Cada elemento de la matriz X especifica una fila de la matriz del mapa de colores, es decir, un color específico. Por lo tanto, los elementos de la matriz X son apuntadores hacia el mapa de colores. Una imagen así representada se dice que es una **imagen indexada**.

3.2.4. MODELOS O ESPACIOS DE COLOR

Hemos de tener en cuenta que el ojo humano percibe los colores según la longitud de onda de la luz que le llega. La luz que contiene todo el espectro de color aparece como luz blanca, mientras que la ausencia de luz es percibida por nuestro ojo como el color negro. Sin embargo, Las propiedades del color pueden ser definidas matemáticamente usando un "modo de color" de forma que éste pueda ser capturado y clasificado.

El estándar de color. Existe desde el año 1976 en que fue definido por la CIE Lab (*Commission Internationale de l'Eclairage*) y era el "modo de color" CIE L*a*b, una representación numérica de todos los colores visibles, a partir de una base matemática creada en 1931 por el mismo organismo, la CIE, cuando el tratamiento digital de las imágenes no era ni siquiera un sueño.

Fundamentalmente existen cuatro modos de color: HSB (tono, saturación y brillo), RGB (*red, green y blue* o RVA, rojo, verde y azul), CMYK (cián, magenta, amarillo y negro) y el modo L*a*b*. A continuación se describen los utilizados en el presente proyecto:

3.2.4.1. Color RGB

Este modo es el más cercano ya que es el usado en la iluminación artificial y en la mayoría de monitores y pantallas gráficas proporcionando la mayoría del espectro visible mezclando las luces generadas por fósforos rojos, verdes y azules. Estos tres colores primarios crean el blanco cuando se combinan simultáneamente por eso se llaman "aditivos".

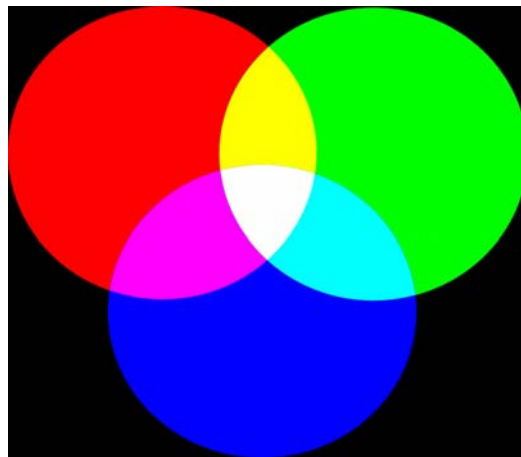


FIGURA 21. COLORES RGB

Espacio de color RGB

Al mezclarse dos a dos, crean los colores secundarios. Al mezclarse luz verde con azul se obtiene el cian, con la luz roja y azul se logra el magenta y usando luz roja y verde observaremos un llamativo amarillo. Si la mezcla es en diferentes proporciones de estos colores básicos se van originando los diferentes tonos de la gama del espectro.

3.2.4.2. Color L*a*b

Este modo se basa en un estándar desarrollado por la CIE y diseñado para ser "independiente del dispositivo", es decir, crea colores persistentes e inalterables por el medio de salida de la imagen, ya sea una impresora o un monitor.

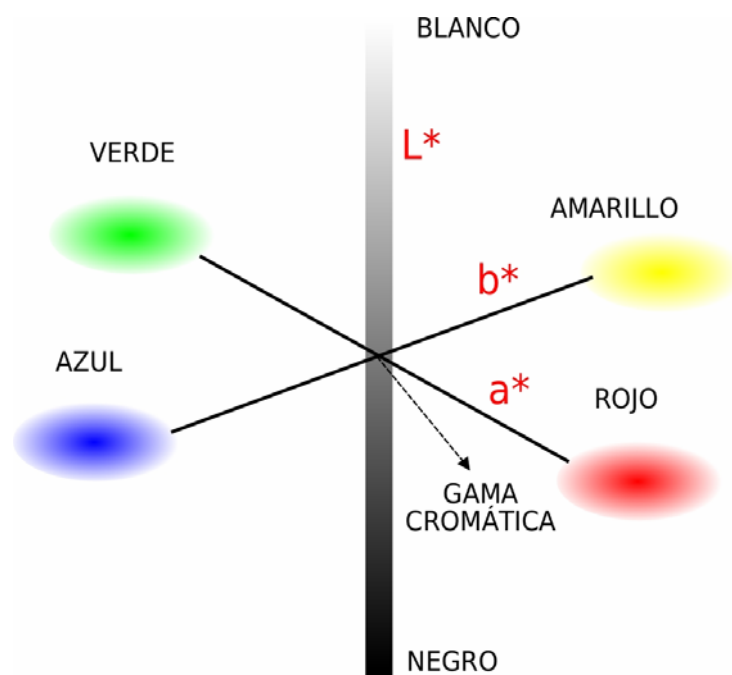


FIGURA 22. ESPACIO DE COLOR L*a*b

Espacio de color L*a*b

Consiste en una "luminancia" o componente de luminosidad (L) junto a dos componentes cromáticos el "a" que va de verde a rojo y el "b" que va de azul a amarillo, prácticamente lo que ocurre con los colores opuestos de la "rueda de color".

Este modo de color es el que presenta una "gama de color" más amplia que incluye a las gamas de los modos RGB y CMYK. Además es usado internamente por cualquier aplicación "seria" de retoque fotográfico para transformar imágenes de un modo de color a otro.⁴

3.3. ETAPAS DEL TRATAMIENTO DIGITAL DE IMÁGENES

El tratamiento de imágenes consta de varias etapas, estas son:

1. Adquisición
2. Preprocesamiento
3. Segmentación
4. Descripción
5. Reconocimiento e Interpretación.

3.3.1 Adquisición de Imágenes. En esta etapa se obtienen las imágenes visuales. Dos elementos son necesarios para adquirir imágenes digitales de video, el primero es un dispositivo físico que sea sensible a la banda visible del espectro electromagnético y que produzca una señal eléctrica proporcional al nivel de energía percibido, y el segundo es un digitalizador capaz de convertir la señal eléctrica del dispositivo en una forma digital, aunque en la actualidad existen cámaras que entregan ya la señal digital directamente al computador haciendo así innecesario el digitalizador.

⁴ Grimaldos. Tratamiento Digital de Imágenes. Capítulo 1. Preliminares.
<http://www.grimaldos.es/cursos/imgdig/x305.html>

3.3.2. Pre-procesamiento. El objetivo principal del pre-procesamiento es una mejora de los datos de la imagen suprimiendo los efectos de ruido e incrementando las características deseadas para un exitoso procesamiento.

La función básica del preprocesamiento es la de mejorar la imagen de forma que se aumenten las posibilidades de éxito en los procesos posteriores. Ésta permite mejorar algunos fallos de la imagen como coloración e iluminación, que posiblemente serán impedimentos para la obtención de los detalles de la imagen.

Una de las técnicas utilizada en ésta etapa es el proceso de filtrado que se lleva a cabo cuando se eliminan ciertas componentes espectrales de la imagen permitiendo que otras permanezcan en la imagen filtrada haciéndola aparecer más suave, más áspera o con menos ruido.⁵

Los filtros se usan comúnmente para corregir y restaurar imágenes afectadas por el mal funcionamiento del sistema, mejorar las imágenes para su interpretación visual, y extraer rasgos particulares. Como todos los procedimientos de optimización, el objetivo es crear nuevas imágenes a partir de los datos de la imagen original, de tal manera que se incremente la cantidad de información que pueda ser visualmente interpretada. Acorde a las características que se quieran resaltar, es posible utilizar diferentes técnicas de filtrado.

a) Procesamiento por punto: Aquellas operaciones que se realizan en función de las intensidades de cada píxel.⁶

⁵ PAJARES, Martinsanz Gonzalo, and DE LA CRUZ Garcia, Jesús M. Visión por computador. Imágenes digitales y aplicaciones. Dpto. de Arquitectura de computadores y Automática. Facultad de Ciencias Físicas. Universidad Complutense de Madrid.

⁶ REINA, Juan Mauricio. Procesamiento de Imágenes en C# Parte I: Mejora por procesamiento de punto. 10/08/2004 <http://www.programar.net/articles/procesamiento.aspx>

b) Filtros de frecuencia espacial: resaltan o suprimen datos de la imagen que presentan frecuencias espaciales específicas. La frecuencia espacial se refiere a la forma en que ocurre la variación de los valores a través de una imagen. Las áreas de la imagen en las que en una zona relativamente pequeña se observa un cambio brusco no gradual en los valores de los números digitales presentan una “alta frecuencia espacial”; en el caso contrario en el cual los valores de los números digitales cambian de manera gradual con respecto a los valores de los píxeles aledaños, presentan una baja frecuencia espacial, poco contraste. Los filtros de frecuencia baja o “low pass filters” son diseñados para resaltar rasgos con frecuencias bajas y suprimir, los componentes de frecuencias altas de una imagen, los filtros de frecuencia alta o “high pass filters” hacen justamente lo contrario.

c) Filtrado en el dominio de la frecuencia: Incluye técnicas que están basadas en la modificación de la transformada de Fourier de la imagen. Los filtros paso bajo atenúan o eliminan los componentes de alta frecuencia en el dominio de Fourier. Las altas frecuencias son características de bordes, curvas y otros detalles en la imagen, así el efecto de un filtro paso bajo es el de difuminar la imagen. De igual forma, los filtros paso alto, atenúan o eliminan las bajas frecuencias. Éstas son las responsables de las pequeñas variaciones de las características de una imagen, tal como pueden ser el contraste global y la intensidad media. El resultado final de un filtro paso alto es la reducción de estas características, y la correspondiente aparición de bordes y otros detalles de curvas y objetos.⁷

⁷ Curso de Tratamiento Digital de Imágenes Técnicas de filtrado espacial.
<<http://www.tsc.uc3m.es/~jcid/cursotdi/fourier/mascara/index.html> >

3.2.3. Segmentación.

En esta etapa los objetos de interés en la imagen son separados del fondo para su posterior estudio. Hace referencia a la disgregación de una imagen, ya que se subdivide esta en sus partes componentes, que son aquellas a las que se les ha de realizar el estudio (núcleo, citoplasma, etc.). De una buena segmentación depende el éxito o el fracaso del análisis de la imagen. La imagen se segmenta a partir de dos criterios, uno son las discontinuidades que se presentan, siendo estas posibles bordes o líneas, el otro habla de las similitudes, donde se observan el crecimiento, la división y fusión de regiones.

Una de las técnicas de segmentación más utilizadas es la de umbralización, que consiste en llevar una imagen en escala de grises a ser una imagen binaria, es decir, la imagen a escala de grises se convierte en una imagen compuesta solo por el color blanco y el negro puros a partir de uno de los niveles de gris que es utilizado como umbral. De esta manera la imagen se interpreta así: los objetos son aquellos de color blanco y el fondo corresponde al color negro.

Una de las herramientas más utilizada y completa para este proceso es la morfología matemática. Esta técnica posee un enfoque basado en la forma de los objetos, de esta manera se puede llegar a simplificar datos sin perder características esenciales de su forma. Por tal motivo su generalizado uso en el tratamiento de imágenes para microscopía.

El lenguaje utilizado por la morfología matemática facilita la iteración con ella, ya que es muy similar al utilizado en la teoría de conjuntos. Este representa las formas que se manifiestan sobre imágenes binarias o en escala de grises.

Morfología Matemática

La morfología matemática es una técnica no lineal del procesamiento digital de imágenes basada en operaciones de conjuntos.

La palabra morfología significa forma y estructura de un objeto. Para imágenes binarias se definen operaciones morfológicas y con estas se constituye una herramienta de extracción de componentes de imagen útiles en la representación y descripción de la forma de las regiones.

Desde un punto de vista geométrico la morfología consiste en comparar los objetos a analizar con otro objeto de forma conocida, llamado *elemento estructurante*.

La Morfología Matemática se caracteriza por un conjunto específico de operaciones sobre imágenes en cuanto a conjuntos de píxeles. Podemos dividir las operaciones realizadas sobre imágenes binarias y operaciones realizadas en imágenes en grises y de color. Se examinarán las operaciones sobre imágenes binarias.

Las operaciones básicas de la morfología matemática se ilustran a partir del siguiente ejemplo: sea A la imagen segmentada y B el elemento estructurante:

- **Erosión.** Definida como:

$$A \ominus B = \{x \mid (\hat{B})_x \subseteq A\}$$

Todos los elementos de B reflejado se encuentran contenidos en A

- **Dilatación.** Definida como:

$$A \oplus B = \{x \mid (\hat{B})_x \cap A \neq \emptyset\}$$

Al menos uno de los elementos de B reflejado se encuentra contenido en A

Basados en estas operaciones se pueden crear las siguientes rutinas:

- **Apertura.** Definida como:

$$A \circ B = A \oplus (A \ominus B)$$

Esto es una erosión, seguida de una dilatación. Permite separar objetos traslapados o unidos.

- **Cierre.** Definida como:

$$A \bullet B = A \ominus (A \oplus B)$$

Esto es una dilatación, seguida de una erosión. Permite llenar huecos en los objetos.

3.2.4. Representación y Descripción.

Una vez segmentadas las imágenes, se procede a la etapa de descripción de su contenido. Allí se observan básicamente dos características, aquellas que corresponden a su contorno (líneas y características externas) y las que tienen que ver con la región que ocupan (características internas).

Cuando la descripción del objeto se centra en el contorno, se busca hallar datos que tienen que ver con su perímetro, longitud y forma, para el caso particular que atañe a la tesis, sería la descripción del contorno de los núcleos y citoplasmas presentes en una imagen de células de citología. Si el foco de estudio es por el contrario la región que ocupa, seguramente el análisis se dirige a encontrar características que identifican el color y la textura del objeto de estudio.

- **Descriptores Simples de representación:**

Longitud de contorno: cuenta el número de píxeles a lo largo de su contorno.

Diámetro de contorno: El valor del diámetro y la orientación de la línea que contiene los dos puntos externos de diámetro (eje mayor del contorno).

Curvatura: Se define como el ritmo de variación de la pendiente. Es difícil obtener medidas fiables de curvatura en un punto de un contorno digital, pero es útil utilizar como un descriptor de curvatura el punto de intersección de los segmentos.

Descriptores de Fourier: Son los coeficientes de la Transformada Discreta de Fourier de una serie, donde las coordenadas de los píxeles son utilizados como una serie de números complejos.

Firmas: Una firma es una representación funcional unidimensional de un contorno y se puede generar de varias formas.

Momentos: Los momentos describen cuantitativamente los lados del contorno y de las firmas.

Referente a las regiones son utilizados algunos descriptores como:

Descriptores Simples de región:

Área de una región: Se define como el numero de píxeles contenido en su contorno.

Perímetro de una región: Es la longitud de su contorno.

Ejes principales de una región: Son los vectores propios de la matriz de covarianza obtenida al utilizar los píxeles anteriores de la región como variables aleatorias.

Descriptores topológicos: Son útiles para descriptores globales de regiones, estudia la propiedades de la figura a las que no afecta ninguna deformación, en tanto no hay división horizontal o uniones de la figura (huecos).

Textura: Un método importante para la descripción de regiones consiste en cuantificar su contenido de textura. Aunque no existe una definición formal de la textura, este descriptor proporciona intuitivamente medidas de propiedades tales como suavizado, rugosidad y regularidad.

3.2.5. Reconocimiento e Interpretación. Con base en la información suministrada por una serie de descriptores utilizados, el reconocimiento asigna una etiqueta a cada elemento. La interpretación se encarga de asignar un significado a un conjunto de objetos reconocidos.



FIGURA 23. ETAPAS DE UN SISTEMA DE VISION COMPUTACIONAL

4. DESARROLLO DEL MODELO COMPUTACIONAL

4.1. METODOLOGÍA

La metodología sobre la cual se basa el desarrollo de la herramienta es el Proceso Unificado de Desarrollo de Software, que utiliza Lenguaje Unificado de Modelado, con el cual se preparan los componentes del sistema. La herramienta se construyó a través de casos de uso, avanzando de manera iterativa e incremental. Entiéndase como caso de uso toda acción que proporcione al usuario un resultado importante.

Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto, es parte esencial de dicha metodología, el definir claramente los requerimientos del usuario, que no es más que lo que el usuario espera obtener del software. En este proceso se viven cuatro fases, cada una de las cuales se divide en iteraciones y cada iteración pasa por cinco flujos de trabajo que son:

- **Requisitos:** Su propósito es describir las actividades a ser realizadas por el Software según los acuerdos pactados entre el desarrollador y el usuario.
- **Análisis:** Su objetivo es lograr una comprensión más precisa de los requisitos y obtener una descripción de éstos que permita estructurar el sistema de una manera más fácil.

- **Diseño:** Su propósito fundamental es formular modelos que permitan una correcta evolución del producto.
- **Implementación:** Su propósito es la construcción del sistema, es decir, la elaboración del código fuente, interfaces, ejecutables, etc.
- **Prueba:** Su objetivo es comprobar el resultado de la implementación mediante pruebas.

Las fases de un ciclo son:

Inicio: En esta fase se desarrolla una descripción del producto final a partir del modelo de casos de uso y un esbozo de la arquitectura provisional del sistema. Además, se planifica en detalle la fase de elaboración.

Elaboración: Se especifican en detalle la mayoría de los casos de uso y se diseña la arquitectura del sistema. Durante esta fase se realizan los casos de uso más críticos detectados en la fase de inicio. Además se planifican las actividades y se estiman los recursos necesarios para terminar el proyecto.

Construcción: Se consolida la arquitectura del sistema, lo que permite construir el sistema de acuerdo a los casos de uso que se habían establecido.

Transición: Se verifica si realmente se cumplió con los objetivos propuestos, de no ser así, se hacen las respectivas correcciones para poder entregar el producto final.

Al ser esta una investigación que requiere necesariamente de una verificación constante, y siendo esta una metodología que también permite llevar un control de los avances a lo largo del proceso, se consideró como la más apropiada.

El caso de uso se define acorde al objetivo general planteado anteriormente, donde se ha de tener presente que el actor es el Médico Patólogo.

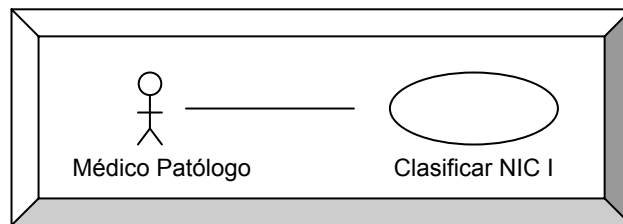


Figura 24. Diagrama de Casos de Uso

El caso de uso Clasificar NIC I, permite a su vez crear el modelo de análisis, descrito como una estructura de clases y relaciones entre ellas.

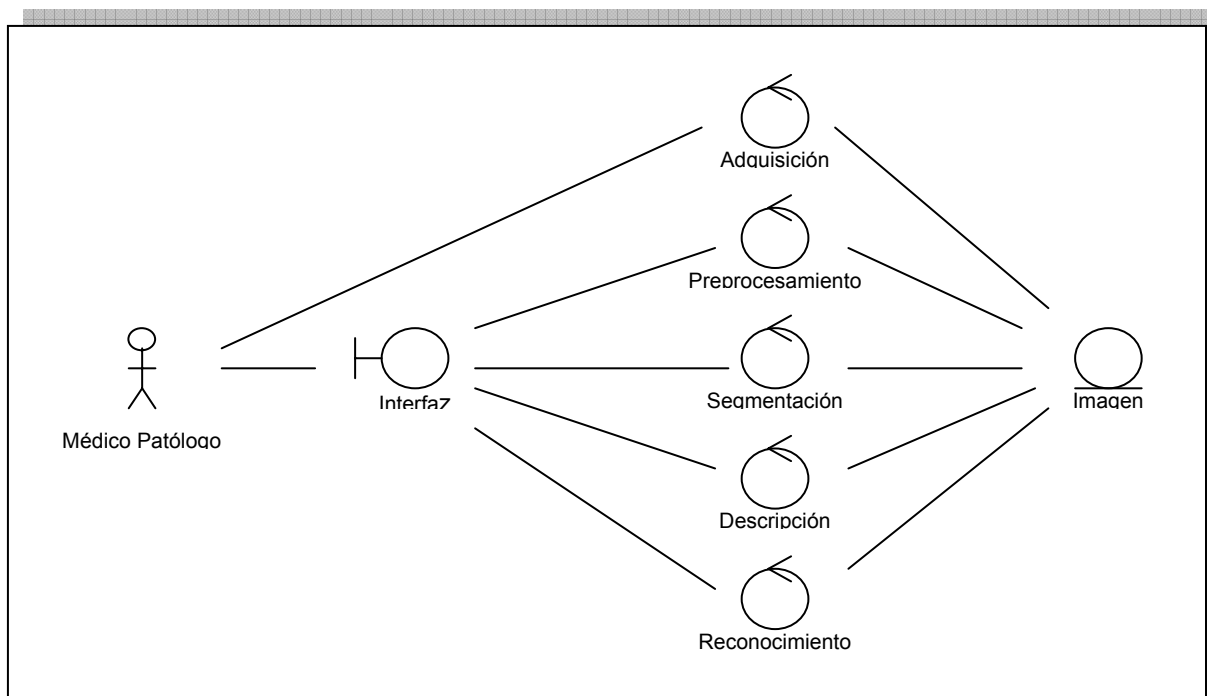


Figura 25. Diagrama del Modelo de Análisis

4.2. ADQUISICIÓN

Debido a experiencias pasadas de proyectos trabajados en el Grupo de Investigación en Ingeniería Biomédica (GIIB), se tenía la idea de un modelo de adquisición a ser usado. Dicho modelo fue elaborado en el Departamento de Patología de la Facultad de Salud de la Universidad Industrial de Santander; en el cual se utilizó un Microscopio Trinocular (OLYMPUS, MODEL CX31RTSF), el cual permitió un aumento de 40x (estandar para todas las fotos). Una Cámara Compacta Digital (OLYMPUS, Camedia c-7070 WIDE ZOOM), con conexión USB, ésta almacenaba las imágenes en la memoria para descargarlas posteriormente a un Computador Intel Inside Centrino con Sistema Operativo Windows XP.

Las imágenes tomadas eran guardadas en formato JPEG (Joint Photographic Experts Group), con una resolución de 1600x1200 píxeles y un tamaño aproximado de 1MB, que dio como resultado imágenes con alta definición.

En el proceso de adquisición (y pensando en realizar una buena caracterización de datos) se obtuvieron células individuales y en grupo que mostraran un alto contraste con el fondo y rasgos característicos de NIC II, además de tener la seguridad de su patología con el resultado de una biopsia realizada a la paciente.

Para ilustrar este punto se agrega a continuación dos imágenes, una con célula individual y otra con células en grupo, la cuales fueron representativas de esta patología (NIC II) entre las adquiridas para el proyecto.

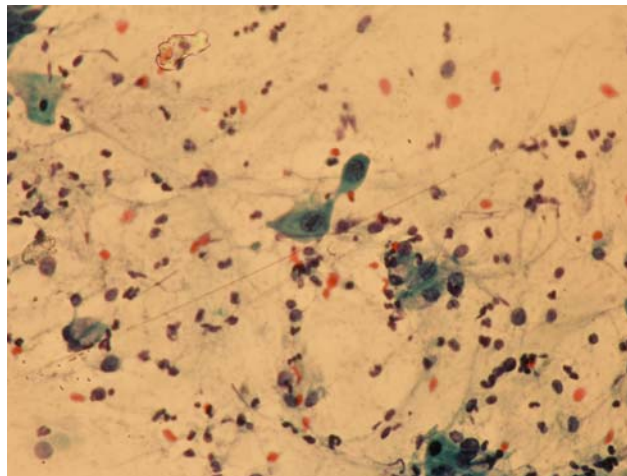


FIGURA 26. Células tratadas individualmente

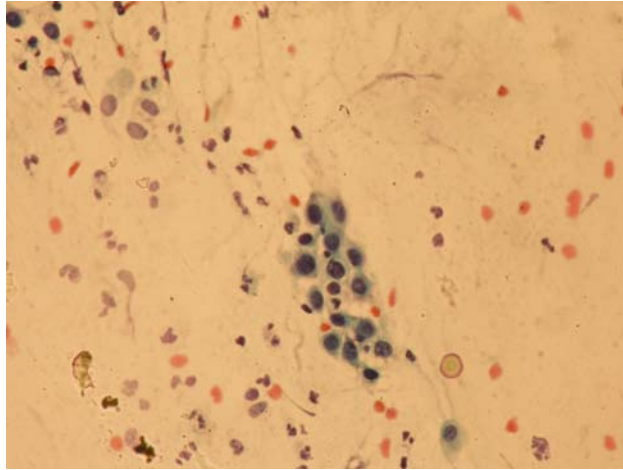


FIGURA 27. Células tratadas en grupo

4.3. PREPROCESAMIENTO

El preprocesamiento consiste en un conjunto de técnicas orientadas a mejorar la presentación de la imagen digital con la finalidad de facilitar la interpretación por parte del analista.

En nuestro caso, después de obtener las imágenes médicas proseguimos a aplicar ciertas técnicas basadas en la aplicación de algoritmos con el fin de obtener información relevante de estas para el presente proyecto. La idea es identificar el contorno del citoplasma y del núcleo de las diferentes células identificadas, buscando relaciones que vislumbren una caracterización de la célula.

En la etapa final del proceso se extraerán las características de cada célula etiquetada e identificada (área, perímetro, eje mayor, eje menor, etc.) lo cual permitirá la obtención de los resultados convencionales del análisis de las células.

Las etapas de procesamiento fueron simuladas e implementadas en plataforma MATLAB 7.2. haciendo uso de las herramientas de procesamiento de imágenes que este *software* posee.

Normalmente en esta etapa de preprocesamiento se aplica una serie de filtros a las imágenes con el fin de mejorar su visualización. Sin embargo, gracias a que contamos con la disposición de un buen dispositivo para la adquisición de imágenes y gracias a la aplicación de ciertos algoritmos basados en transformaciones de color que arrojaron muy buenos resultados, no se necesitó de la aplicación de algún filtrado en especial, razón por la cual sólo serán mencionados, basándonos más que todo en la aplicación de las transformadas de color.

4.3.1. TRANSFORMACIONES DE COLOR.

Para el desarrollo del presente proyecto no se utilizó en esta etapa (como comúnmente se hace) filtros para mejorar las condiciones de la imagen, el preprocesamiento aplicado consiste en hacer transformaciones de los planos de color con que cuenta la imagen a otros, que al ser vistos por separado, permitan capturar datos de manera más confiable y puntual. Este método de preprocesamiento fue usado para resaltar los núcleos de los citoplasmas y viceversa. También se obtuvo información de color que permitió eliminar regiones que no eran de interés para el análisis o que interferían con la extracción de los núcleos y citoplasmas a estudiar.

A continuación se describen las transformaciones de color implementadas en el proyecto, incluyendo las líneas de código donde se observa claramente la forma en que se implementaron y las figuras 15 y 16 que permiten conocer los pantallazos que se arrojaban en la última etapa de las pruebas para escoger las mejores transformadas y los mejores planos de ellas.

Para los citoplasmas se implementaron las siguientes líneas de código en busca de las transformadas de color ya escogidas con sus planos más acertados al delimitar:

Citoplasma 1

```
experimento_peri1_cito(celselec);  
  
Id = im2double(celselec);  
  
cf=makecform('xyl2xyz');  
  
im=applycform(Id,cf);  
  
z1 = (im(:,:,1));  
  
z1i=imcomplement(z1);  
  
z1i=imadjust(z1i);  
  
umbral1 = graythresh(z1);  
  
imb12i = umbralvalor (z1i,umbral1);
```

Citoplasma 2

```
experimento_peri2_cito(celselec);  
  
cf=makecform('srgb2xyz');  
  
im=applycform(celselec,cf);  
  
z2 = (im(:,:,2));  
  
z2=imadjust(z2);  
  
z2i=imcomplement(z2);  
  
z2i=imadjust(z2i);  
  
umbral2 = Kapur(z2);  
  
imb22i = umbralvalor (z2i,umbral2(1));
```

Citoplasma 3

```
experimento_peri3_cito(celselec);  
  
cf=makecform('srgb2lab');  
  
im=applycform(celselec,cf);  
  
cf=makecform('lab2xyz');  
  
im=applycform(im,cf);  
  
z1 = (im(:,:,1));  
  
z1=imadjust(z1);
```

```
z1i=imcomplement(z1);  
z1i=imadjust(z1i);  
umbral1 = Kapur(z1);  
imb12i = umbralvalor (z1i,umbral1(1));
```

Citoplasma 4

```
experimento_peri4_cito(celselec);  
cf=makecform('srgb2lab');  
im=applycform(celselec,cf);  
cf=makecform('lab2xyz');  
im=applycform(im,cf);  
z2 = (im(:,:,2));  
z2=imadjust(z2);  
z2i=imcomplement(z2);  
z2i=imadjust(z2i);  
umbral2 = Kapur(z2);  
valorc4 = valor_kapur_cito(1);  
imb22i = umbralvalor (z2i,umbral2(1));
```

Citoplasma 5

```
experimento_peri4_cito(celselec);  
  
cf=makecform('lab2srgb');  
  
im=applycform(celselec,cf);  
  
z1 = (im(:,:,1));  
  
z1=imadjust(z1);  
  
z1i=imcomplement(z1);  
  
z1i=imadjust(z1i);  
  
umbral1 = Kapur(z1);  
  
imb12i = umbralvalor (z1,umbral1(1));
```

Puede observarse claramente en las líneas las transformaciones de color utilizadas y el plano de color de dicha transformada que se ha escogido. A continuación puede observarse las siguientes transformadas de color usadas para el núcleo:

Núcleo 1

```
cf=makecform('srgb2lab');  
  
im=applycform(celselec,cf);  
  
z1 = (im(:,:,1));
```

```
z1i=imcomplement(z1);  
umbral1=graythresh(z1i);  
imb12i = umbralvalor (z1i,umbral1);
```

Núcleo 2

```
cf=makecform('srgb2xyz');  
im=applycform(celselec,cf);  
z2 = (im(:,:,2));  
z2=imadjust(z2);  
z2i=imcomplement(z2);  
z2i=imadjust(z2i);  
umbral2=kapur(z2);  
imb22i = umbralvalor (z2i,umbral2(2));
```

Núcleo 3

```
ld=im2double(celselec);  
cf=makecform('xyl2xyz');  
im=applycform(ld,cf);  
z3 = (im(:,:,3));  
z3=imadjust(z3);
```

```
umbral1=graythresh(z3);  
imb12i = umbralvalor (z3,umbral1);
```

Núcleo 4

```
ld=im2double(celselec);  
cf=makecform('xyz2xyl');  
im=applycform(ld,cf);  
z3= (im(:,:,3));  
z3=imadjust(z3);  
z3i=imcomplement(z3);  
z3i=imadjust(z3i);  
umbral2=graythresh(z3);  
imb22i = umbralvalor (z3i,umbral2);
```

Núcleo 5

```
ld=im2double(celselec);  
cf=makecform('xyz2xyl');  
im=applycform(ld,cf);  
z3= (im(:,:,3));  
umbral=entropia_media(z3);
```

$imb23i = \sim im2bw(z3, umbral/255);$

La siguiente imagen visualiza la aplicación de las diferentes transformadas que se manejaron en el software. En esta parte del software podemos tener la oportunidad de escoger la mejor imagen con la cual pueda segmentar el núcleo y el citoplasma:

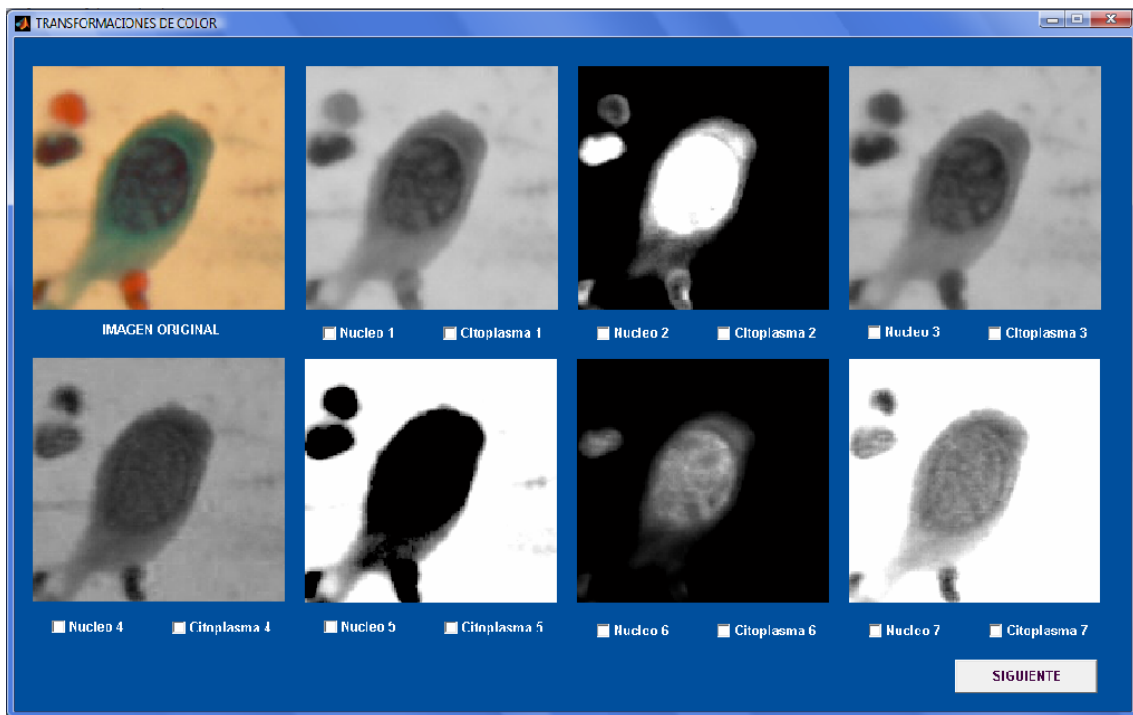


FIGURA 28. Imagen Original con 7 tipos de Transformaciones de Color

4.4. SEGMENTACION

La estructura de este proyecto fue pensada en el tipo de usuarios que van a hacer uso del mismo (patólogos, docentes, alumnos, etc), por esta razón se manejan dos partes para la aplicación del proceso de segmentación. Estas dos partes consisten en la forma Manual y Semiautomática.

En la forma Manual puede ingresar aquel usuario que tenga un conocimiento básico en el área de Tratamiento Digital de Imágenes (TDI). Esta parte nos da la oportunidad de seleccionar la transformada de color que mejor se aplica a una imagen determinada para posteriormente seleccionar el tipo de segmentación que me va a mostrar un mejor desempeño en el proceso de TDI.

En el desarrollo del software se hicieron una serie de pruebas a las imágenes con diferentes tipos de algoritmos de segmentación, concluyendo que los que arrojaban mejores resultados eran los métodos de Pun-Kapur, Entropia Media y Graythresh.

En la forma Semiautomática puede ingresar cualquier usuario que requiera hacer un análisis a determinada imagen. Para ello se le da la facilidad al usuario el manejo de esta etapa de segmentación en donde se le muestran dos ventanas, una con imágenes de citoplasmas y otra con imágenes de núcleos ya segmentados y con sus respectivas áreas demarcadas.

Las siguientes imágenes visualiza las dos ventanas que corresponde a la segmentación de citoplasmas y de núcleos de la forma Semiautomática del software. Estos pantallazos muestran la imagen con las diferentes

transformadas de color y los diferentes métodos de segmentación ya aplicados. Para ello se realizaron diferentes pruebas con imágenes y se seleccionaron las transformadas de color con los métodos de segmentación que mejor arrojan resultados.

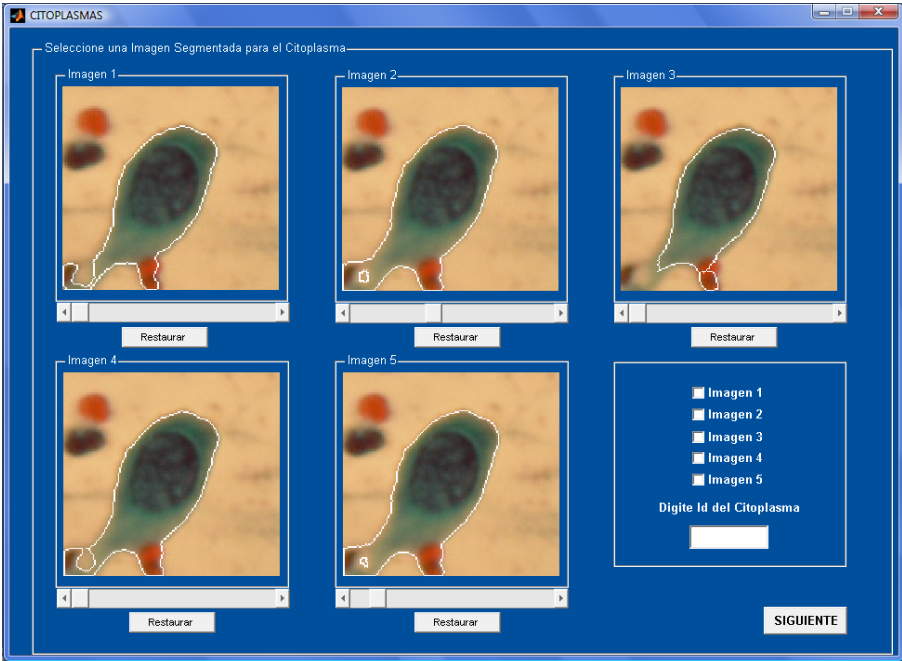


FIGURA 29. Imágenes con el área del citoplasma seleccionada

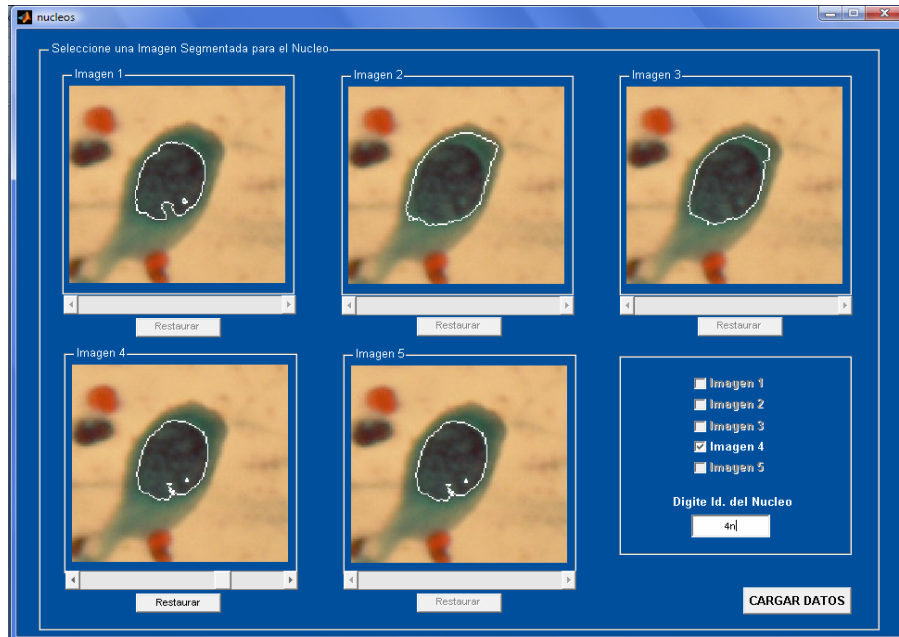


FIGURA 30. Imágenes con el área del núcleo seleccionada

4.4.1. ALGORITMOS DE SEGMENTACIÓN

Para dar comienzo a ésta etapa requiere haber cumplido con la adquisición pero no necesariamente con el preprocesamiento de las imágenes, pues su uso depende del juicio del observador.

Se maneja dos tipos de imágenes a segmentar, Individual y Grupo. Para el tipo de imagen Individual se requiere que el usuario haya seleccionado una imagen con una sola célula, en caso contrario el software no dará un óptimo resultado. Y para el tipo de imagen Grupo se selecciona una imagen con grupo de células.

Las células utilizadas presentan dos objetos a observar como son el citoplasma y el núcleo, que precisan ser segmentados con el fin de obtener características individuales y sus respectivas relaciones. Esto corresponde a los dos tipos de imágenes.

Se presentan dos formas de segmentación aplicados a los objetos de la imagen: Manual, que me da la oportunidad de escoger la transformada de color y el método para hallar el umbral, y semiautomático, donde me muestra los citoplasmas y los núcleos ya segmentados.

4.4.2. Segmentación del Núcleo y del Citoplasma

Para la separación del citoplasma se tuvo en cuenta una secuencia de pasos descritos a continuación.

- Selección del algoritmo de transformación del espacio de color, conforme a la ventaja ofrecida para determinada muestra a juicio del observador.
- Umbralización a partir de un valor obtenido de uno de los algoritmos mencionados en el software (Pun-Kapur, Entropia Media, Graythresh) o a preferencia del observador por medio de una de las herramientas ofrecidas por Matlab, como es el *Slider*.
- Aplicación de morfología matemática.

4.4.3. Umbralización

La umbralización de una imagen en escala de grises, permite dado un umbral definido por algún método, separar el fondo del objeto, siempre y cuando los dos tengan sus niveles de gris agrupados en dos modos dominantes.

Para encontrar el umbral óptimo en las imágenes de citología cervicouterina; se desarrollaron los siguientes algoritmos de segmentación:

4.4.3.1. Método PUN-KAPUR

El primer método empleado se denomina Pun-Kapur. Éste localiza el umbral utilizando la entropía del histograma. Pun Define dos entropías a posteriori, una para el objeto y otra para el fondo. Kapur hace una extensión de estas involucrando distribuciones de probabilidad.

$$H_b(t) = - \sum_{i=0}^t \frac{p_i}{P_t} \ln \left(\frac{p_i}{P_t} \right)$$

$$H_w(t) = - \sum_{i=t+1}^{l-1} \frac{p_i}{1-P_t} \ln \left(\frac{p_i}{1-P_t} \right)$$

$$H = H_b + H_w$$

Donde H_w es la entropía del objeto, H_b es la entropía del fondo, p_i es la probabilidad de un nivel de gris, P_t es la distribución de probabilidad del histograma, y el umbral t es localizado cuando H es máximo.

Dado que sólo detecta umbrales para histogramas bimodales, se realizó una modificación que permitió trabajar aquellos que presentan tres distribuciones, característicos de las imágenes celulares: Se obtiene el primer umbral, se eliminan los niveles menores a éste y se ejecuta nuevamente el algoritmo.

El método modificado permitió segmentar las células que presentaban una gran diferenciación entre el núcleo, el citoplasma y el fondo.



FIGURA 31. Núcleo segmentado con el método de Pun-Kapur

4.4.3.2. Método de Otsu

El **método de Otsu**, llamado así en honor a Nobuyuki Otsu que lo inventó en 1979, utiliza técnicas estadísticas, para resolver el problema. En concreto, se utiliza la variancia, que es una medida de la dispersión de valores – en este caso se trata de la dispersión de los niveles de gris.

El método de Otsu calcula el valor umbral de forma que la dispersión dentro de cada segmento sea lo más pequeña posible, pero al mismo tiempo la dispersión sea lo más alta posible entre segmentos diferentes. Para ello se calcula el cociente entre ambas variancias y se busca un valor umbral para el que este cociente sea máximo.

Exposición matemática

Como punto de partida tomamos dos segmentos de puntos ($K_0(t)$ y $K_1(t)$), que serán definidos a partir del valor umbral t . t es la variable que buscamos, y los dos segmentos son el resultado deseado en la segmentación.

Sea $p(g)$ la probabilidad de ocurrencia del valor de gris $0 < g < G$ (G es el valor de gris máximo). Entonces la probabilidad de ocurrencia de los pixels en los dos segmentos es:

$$K_0: P_0(t) = \sum_{g=0}^t p(g) \quad \text{y } K_1: P_1(t) = \sum_{g=t+1}^G p(g) = 1 - P_0(t)$$

Si tomamos dos segmentos (o sea un solo valor umbral) la suma de estas dos probabilidades dará evidentemente 1.

Si \bar{g} es la media aritmética de los valores de gris en toda la imagen, y \bar{g}_0 y \bar{g}_1 los valores medios dentro de cada segmento, entonces se pueden calcular las variancias dentro de cada segmento como:

$$\sigma_0^2(t) = \sum_{g=0}^t (g - \bar{g}_0)^2 p(g) \quad \text{y} \quad \sigma_1^2(t) = \sum_{g=t+1}^G (g - \bar{g}_1)^2 p(g)$$
$$Q(t) = \frac{\sigma_{zw}^2(t)}{\sigma_{in}^2(t)}$$

La variancia entre los segmentos es:

$$\sigma_{zw}^2(t) = P_0(t) \cdot (\bar{g}_0 - \bar{g})^2 + P_1(t) \cdot (\bar{g}_1 - \bar{g})^2$$

La variancia dentro de los segmentos se obtiene de la suma de ambas:

$$\sigma_{in}^2(t) = P_0(t) \cdot \sigma_0^2(t) + P_1(t) \cdot \sigma_1^2(t)$$

El valor umbral t se elige de manera que el cociente $Q(t)$ sea máximo. $Q(t)$ es por lo tanto la medida buscada. De esta forma elegimos un valor umbral que optimiza los dos segmentos en términos de variancia.



FIGURA 32. Núcleo segmentado con el método de Otsu

4.5. DESCRIPTORES

El resultado de la segmentación es un grupo de imágenes binarias, y corresponden con las regiones del núcleo, el citoplasma y sus respectivos bordes. Éstas permiten extraer los diversos parámetros de las células, utilizados para la identificación y clasificación células escamosas de citologías cérvico uterinas con neoplasia intraepitelial cervical II.

Los parámetros utilizados para describir el núcleo son:

- **Área:** calculada como el número de píxeles en blanco de la imagen binaria que contiene el núcleo.
- **Perímetro:** calculado como el número de píxeles en blanco de la imagen binaria que contiene el borde del núcleo.
- **Ejes:** calculados como los ejes de la elipse con el segundo momento igual a la región del núcleo.
- **Circularidad:** relación entre el cuadrado del perímetro y el área, esta medida permite conocer la tendencia circular del núcleo. Si un objeto presenta esta forma geométrica el valor es 4π .
- **Niveles de Color:** para cada plano de color (R, G, B) de la imagen adquirida, se obtienen el nivel menor, la moda, el nivel mayor y el promedio de la región que contiene el núcleo.

- **Firma:** Una firma es una representación funcional unidimensional de un contorno y se puede generar de varias formas. Una de las más simples es representar la distancia desde el contorno como una función de ángulo. Sin embargo, independientemente de cómo se genere la firma la idea básica es reducir la representación del contorno a una función bidimensional, que presumiblemente es más fácil de describir que el contorno original bidimensional.

Las firmas generadas por el procedimiento que se acaba de describir no varían con la translación, pero dependen de la rotación y la escala. Se puede conseguir la normalización con respecto a la rotación encontrando un modo de seleccionar el mismo punto de partida para generar la firma, independiente de la orientación de la firma. El método usado para hacer esto es seleccionar el punto de partida el centroide de cada objeto, sucede que este punto es independiente de aberraciones rotacionales para cada forma de interés.

Para la descripción del citoplasma se utilizan:

- **Área:** calculada como el número de píxeles en blanco de la imagen binaria que contiene el citoplasma.
- **Perímetro:** calculado como el número de píxeles en blanco de la imagen binaria que contiene el borde del citoplasma.
- **Ejes:** calculados como la longitud de los ejes de la elipse con el segundo momento igual a la región del citoplasma.

- **Relaciones Núcleo/Citoplasma:** llamada también Radio N/C, indica la proporción entre el tamaño del núcleo y el citoplasma; se calcula para el área, el perímetro y los ejes.

Con el fin de determinar las medidas del área, el perímetro y los ejes en las unidades utilizadas para la medición de las células, se calculó una relación entre un píxel y la cantidad de micras contenidas en esta área como se explico en la adquisición de las imágenes.

La transformación de dimensiones fue aporte del grupo de investigación GII B al proyecto, mediante el uso de una reglilla con subdivisiones, donde se estableció la cantidad de pixeles contenidos dentro de una casilla de 1 micra de lado.

4.6. RECONOCIMIENTO E INTERPRETACION

La Inteligencia artificial (AI) es definida como la inteligencia exhibida por una entidad artificial. Generalmente se asume que dicha entidad o sistema sea un computador

A pesar de que la IA tiene una fuerte connotación en la ciencia ficción, forma una rama vital en las ciencias de la computación, la cual lidia con el comportamiento inteligente, el aprendizaje y la adaptación en las máquinas. La investigación en el campo de la IA se relaciona con la producción de

máquinas para la automatización de tareas que requieran un comportamiento inteligente. Algunos ejemplos se encuentran en el área de control de sistemas, calendarización y planificación automática, la habilidad de responder a diagnósticos y a consultas de los consumidores, reconocimiento de escritura, reconocimiento del habla y reconocimiento facial. De este modo, se ha convertido en una disciplina científica, enfocada en proveer soluciones a problemas de la vida diaria. Los sistemas de IA actualmente son parte de la rutina en campos como economía, medicina, ingeniería y la milicia, así como se ha usado en gran variedad de aplicaciones de software, juegos de estrategia como ajedrez de computador y otros videojuegos.

4.7. RED NEURONAL

La etapa de reconocimiento busca observar las diferentes características que posee una célula con NIC II en cuanto a su forma, coloración y grumosidad (para el núcleo), y la relación de área, ejes y perímetros del núcleo y el citoplasma.

Teniendo en cuenta estas características, se busca definir si una célula pertenece o no a la patología tratada en este trabajo (NIC II). Para tal fin, se creó una Red neuronal que utiliza arquitecturas implementadas en Matlab 7.1.

La red creada consta de 600 epochs, 20 neuronas de entrada y una de salida que al final debe orientarme a una respuesta posible, si la célula analizada cumple o no con las características de NIC II.

Es de tener en cuenta que la creación de este tipo de herramientas inteligentes, debe realizarse a prueba y error, tratando de observar las mejores reacciones dependiendo de la cantidad de neuronas y capas (si se necesitan capas ocultas), el número de epochs y los algoritmos de convergencia.

Se utilizó la arquitectura Backpropagation con una capa de entrada y una de salida. Los valores finales oscilan entre menos uno (-1) y uno (1), donde los valores por encima de cero (0) tienen como respuesta ="La célula cumple con los parámetros de NIC II", y valores iguales o por debajo de cero (0) ="La célula NO cumple con los parámetros de NIC II"

Las funciones utilizadas para crear la red pueden observarse en el archivo redes.m en la siguiente línea de código:

```
Net = newff(minmax(entradas),[20 1],('tansig' 'tansig'),'traingdx');
```

Se contaba para el entrenamiento y posterior prueba, un total de 20 imágenes con biopsia positiva para NIC II, de las cuales 8 muestran una célula con núcleo y citoplasmas definidos sin superposición de vecinos. Dentro de las 8 fueron seleccionadas 6 que mostraban buenos resultados en la segmentación y de las cuales se podía sacar datos precisos a utilizarse.

Además de estas imágenes de NIC II, se entrenó la red con un total de ocho (8) imágenes positivas para NIC I y cinco positivas para NIC III. Actualmente se está en la búsqueda de más imágenes para nutrir la Red Neuronal.

Luego de una primera lectura correspondiente a Redes Neuronales, se creía que debía crearse con rangos de datos de cada característica, motivo por el cual se tomaron datos máximos y mínimos de cada característica de entre varias células, arrojando ventanas como la siguiente hasta escoger una de ellas. Para el manejo de grupos de células se le adicionaron 2 campos,

Sincitial y Polaridad, pero para la toma de datos de células individuales estos dos campos no se tienen en cuenta:

The screenshot shows a software window titled "limites_descripcion_nucleo". It contains a table with two columns: "PARAMETROS" and "VALORES MAXIMOS". To the right of the table are two input fields labeled "Polaridad" and "Sincitial", and a button labeled "CARGAR".

PARAMETROS	VALORES MAXIMOS
NUCLEO	
Rojo Maximo	135
Verde Maximo	135
Azul Maximo	31
Rojo Minimo	33
Verde Minimo	46
Azul Minimo	96.4659
Rojo Promedio	103.889
Verde Promedio	110.711
Azul Promedio	126
Rojo Moda	126
Verde Moda	120
Azul Moda	3.91655
Rojo Homogeneidad	0.484175
Verde Homogeneidad	0.515334
Azul Homogeneidad	0.498836
Rojo Contraste	9.28651
Verde Contraste	6.70202
Azul Contraste	8.14319

Polaridad: 0

Sincitial: 0.429236

CARGAR

FIGURA 33. Datos de núcleos para la Red Neuronal

<i>PARAMETROS</i>	<i>VALORES MÁXIMOS</i>	<i>VALORES MÍNIMOS</i>
NUCLEO		
AREA(micras cuadradas)	183.118	183.118
PERIMETRO(micras)	46.8117	46.8117
EJE MAYOR(micras)	16.4802	16.4802
EJE MENOR(micras)	14.2104	14.2104
CIRCULARIDAD	0.599587	0.599587
CONTORNO	3.91655	3.91655
CITOPLASMA		
AREA(micras cuadradas)	426.615	426.615
PERIMETRO(micras)	82.2368	82.2368
EJE MAYOR(micras)	27.9647	27.9647
EJE MENOR(micras)	20.1627	20.1627
RELACIONES		
AREA	0.429236	0.429236
EJE MAYOR	0.589321	0.589321
EJE MENOR	0.704783	0.704783
<input type="button" value="CARGAR DATOS"/>		

FIGURA 34. Datos de núcleos-citoplasmas para la Red Neuronal

Luego de una lectura más a fondo y consulta con profesores expertos en el manejo de estas herramientas de Inteligencia Artificial, se concluyó que en su creación debía intervenir solo una hilera de datos correspondientes a cada característica de la imagen a analizar, con lo que las tablas anteriores resultaron obsoletas, haciendo nuevamente el proceso de obtención de datos de a una célula y utilizando solo los datos que aparecen en la columna llamada “**VALORES MÁXIMOS**”.

4.8. BASE DE DATOS

El diseño de la base de datos se hizo de forma relacional, esto permite reducir la redundancia de la información. Las tablas son las siguientes:

- **Paciente:** Contiene los datos generales del paciente y algunos datos de su historia clínica con el fin de orientar al patólogo al momento de dictaminar un diagnóstico. La relación con la tabla imágenes se aplicó para que no se pueda relacionar una imagen a más de un paciente.
- **Imágenes:** Contiene el vínculo al archivo de las imágenes de los pacientes. Relacionada con las tablas núcleo y citoplasma ya que una imagen puede tener varios citoplasmas, pero cada citoplasma ha de tener un solo núcleo.

- **Núcleo:** Contiene los parámetros extraídos de los núcleos, se relaciona solo con la tabla imagen.
- **Citoplasma:** Contiene los parámetros extraídos de los citoplasmas, se relaciona con la tabla imágenes.

La siguiente figura muestra el conjunto de tablas y sus respectivas relaciones.

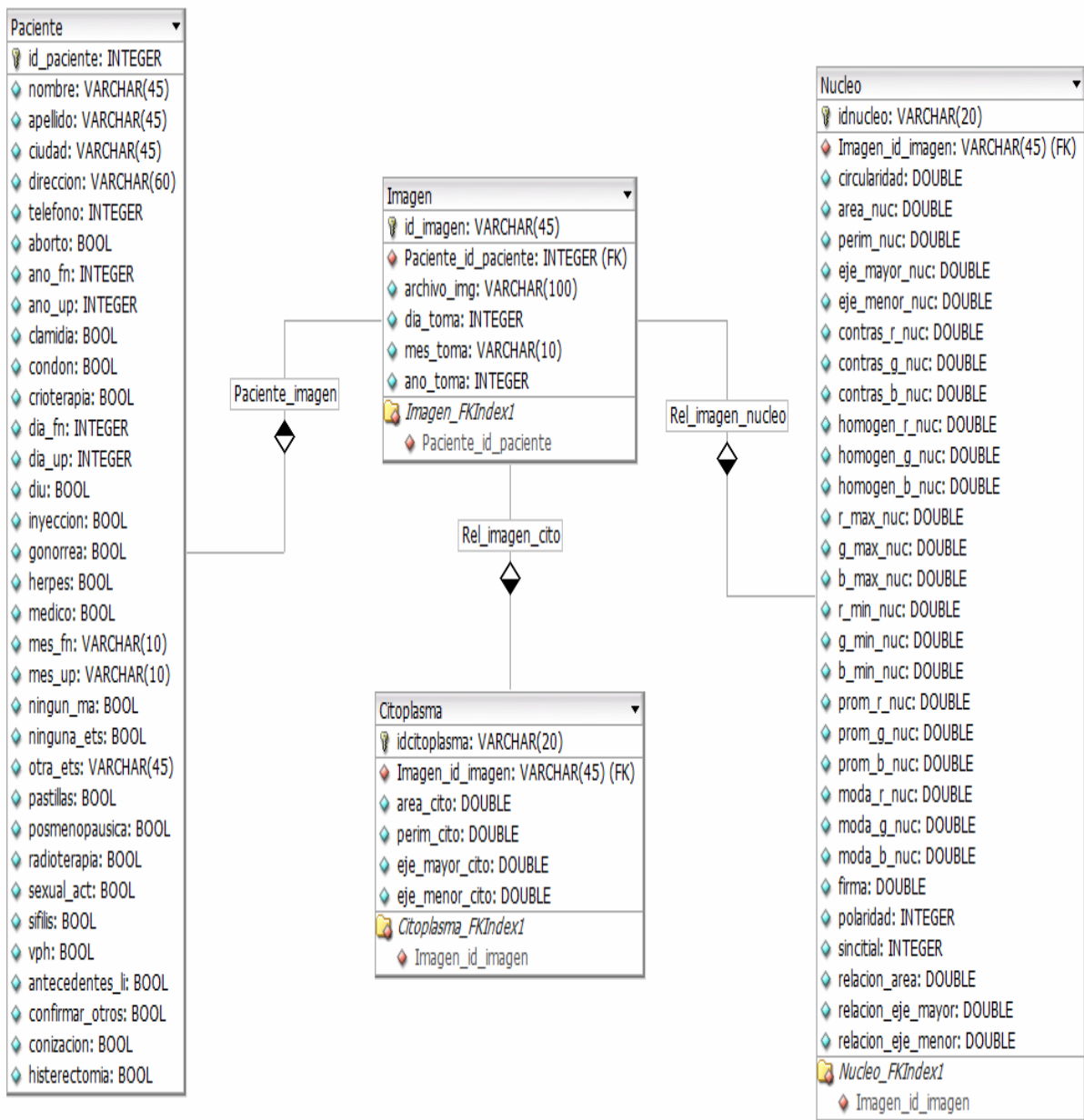


FIGURA 35. TABLAS DE LA BASE DE DATOS

5. MODELO COMPUTACIONAL

El modelo computacional realiza la clasificación de células con Neoplasia Intraepitelial Cervical de grado II (NICII) mediante unos algoritmos que permiten obtener las características de este tipo de células. Este diagnóstico citológico es considerado por el patólogo.

Para el buen uso del software se requiere que el usuario tenga en cuenta los siguientes pasos:

- Se requiere que las imágenes adquiridas posean las características mencionadas con anterioridad en el capítulo de Adquisición.
- Estas imágenes deben estar guardadas en disco en una carpeta llamada **imagenes**, en la dirección *C:\imagenes* y el nombre de cada imagen debe estar encabezado por la cedula o la identificación única de cada paciente.
- En la imagen a procesar se encuentran células individuales o un grupo de células.
- Se realiza el preprocesamiento de las imágenes.
- Se encuentran las regiones de núcleo y citoplasma.
- Se calculan los parámetros de los núcleos y citoplasmas para relacionarlos en la base de datos.

- Por medio de la Red Neuronal se clasifican las imágenes teniendo en cuenta las características de núcleo y citoplasma de acuerdo a los parámetros.

Si algunos de estos pasos fallan o no son realizados como se especifica, los parámetros no se calculan con precisión y es responsabilidad del usuario elegir correctamente las regiones correspondientes a núcleo y citoplasma y los datos del paciente que son requeridos por el sistema.

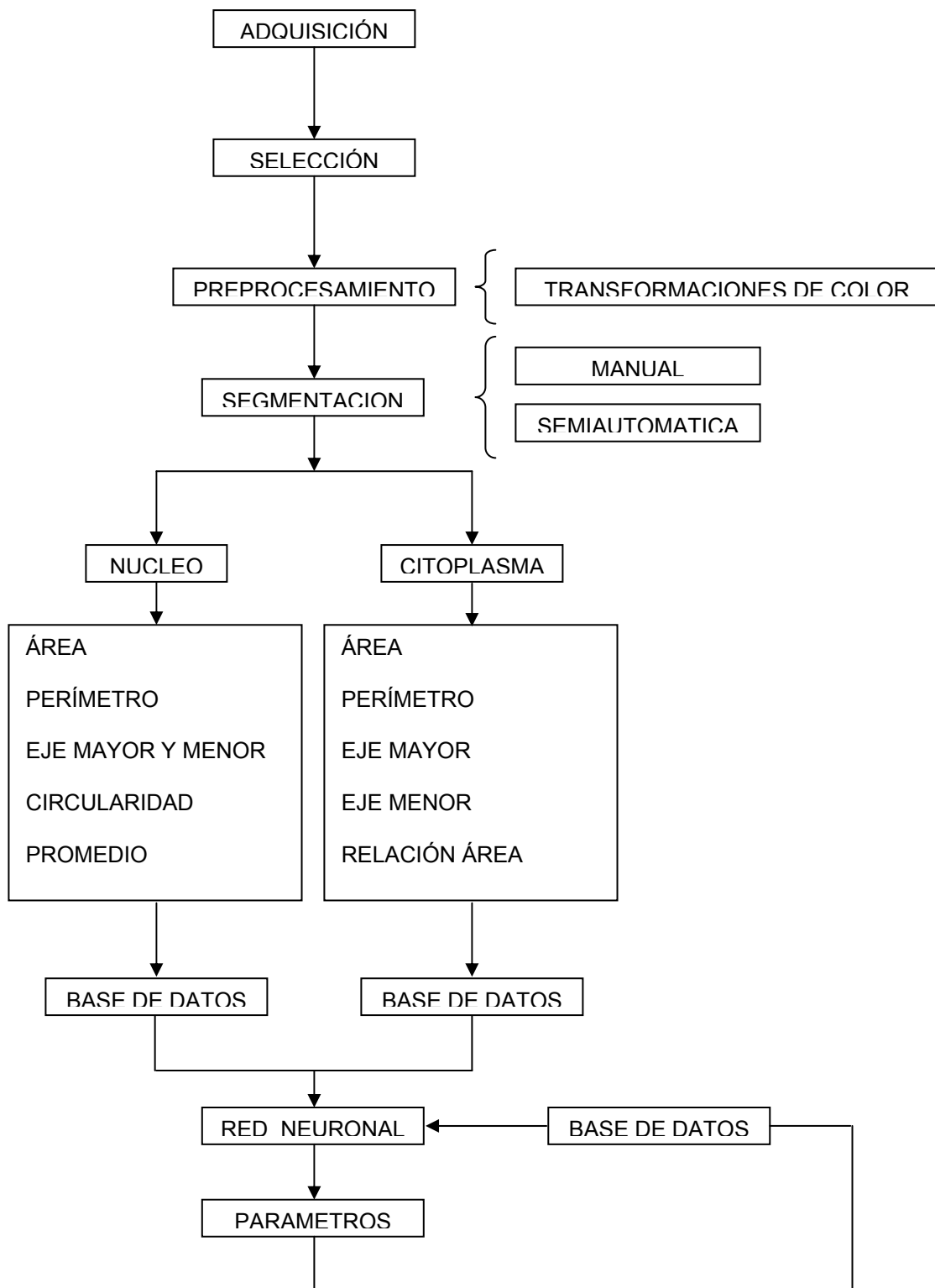


FIGURA 36. DIAGRAMA DEL MODELO COMPUTACIONAL

6. RESULTADOS

La caracterización de las células que presentan factores de Neoplasia Intraepitelial Cervical II (NIC II), se llevó a cabo por medio de una red neuronal. Para ello se realizaron una serie de vectores de entrenamiento con datos de células que pertenecen a la patología, así como células de otras patologías como son NIC I y NIC III.

La creación de una Red Neuronal, exonera a los desarrolladores de otorgar pesos para su entrenamiento, ya que ella se encarga de realizar los respectivos ajustes de los mismos cada vez que se está entrenando.

La Red Neuronal muestra un error del orden de 0.004, en este momento se encuentra pendiente la verificación del error que este Software presenta.

7. CONCLUSIONES

- Se diseñó un software prototipo llamado DIAGNOSIS NIC II, donde se desarrollaron algoritmos y funciones de preprocesamiento (transformaciones de color), segmentación, descripción y caracterización de imágenes de células escamosas cervicouterinas que favorecen Neoplasia Intraepitelial Cervical II (NIC II), para aplicar un análisis que permite obtener los parámetros característicos de dichas células estandarizados en el Sistema Internacional de Clasificación Bethesda.
- Se desarrollaron y optimizaron algoritmos de segmentación que permitieron la posterior extracción de las características criterio para la clasificación de células con factores específicos de NICII.
- Se desarrollaron e implementaron algoritmos que posibilitaron la extracción de rasgos nucleares característicos importantes y determinantes para la clasificación; tales como: textura, distribución de la cromatina, alteración en el contorno, circularidad, tamaño (relación núcleo/citoplasma). Lo anterior se realizó tanto para células sueltas como para grupos de células; para este último caso (células en grupos) se analizó la pérdida de la polaridad nuclear y agregados sincitiales.
- Se diseñó e implementó una Base de Datos, que almacena tanto la información clínica de las pacientes, como los resultados de los valores obtenidos mediante el análisis llevado a cabo durante cada una de las etapas del Tratamiento Digital de Imágenes realizado, facilitando así al

patólogo (usuario final) consultar la información de este estudio, con los datos de registro y análisis de Imágenes en futuras pacientes.

- En este proyecto se trabajó sobre una muestra de 20 Imágenes de células escamosas cervicouterinas, tomadas de placas de citología corroboradas por biopsia como positivo para Neoplasia Intraepitelial Cervical II (NICII); hallando medidas y datos estadísticos de los criterios tenidos en cuenta para la clasificación; tal como se presenta en el capítulo de resultados descrito en este libro.
- DIAGNOSIS NIC II está en capacidad de calcular medidas y datos estadísticos de los criterios tenidos en cuenta por el Sistema Internacional de Clasificación Bethesda; de acuerdo a esto, clasificar una célula suelta o grupo de células con núcleos en monocapa como favorables o no favorables para Neoplasia Intraepitelial Cervical II (NIC II).
- DIAGNOSIS NIC II cuenta con una interfaz gráfica permitiendo al patólogo una fácil interacción con la herramienta durante el proceso de análisis de la Imagen médica.
- Las Redes Neuronales (Inteligencia Artificial) demostraron ser una herramienta óptima para realizar la clasificación de las células presentes en las imágenes analizadas.

8. RECOMENDACIONES

- La herramienta realizada es un complemento para una estación de trabajo, la cual permitiría al patólogo la clasificación de células cervicouterinas y soportar diagnóstico, no sólo de Neoplasia Intraepitelial Cervical II (NICII) sino cualquier tipo de lesión predecesora de cáncer o afección que sea relevante para el patólogo.
- Se debe complementar la herramienta con un análisis más profundo para caracterización de agregados sincitiales y polaridad en imágenes tridimensionales.
- Se debe aumentar la población de imágenes escamosas cervicouterinas positivas para NICII y que tengan una valoración con biopsia para así corroborar que la citología presente imágenes verdaderas para extraer información concluyente, y así hacer unos cálculos más precisos.
- Utilizar otras técnicas de Inteligencia Artificial como la lógica difusa para mejorar la toma de decisión aplicada por la computadora para la clasificación o segmentación de las imágenes médicas, especialmente en el manejo de imágenes con células agrupadas.

9. BIBLIOGRAFÍA

ABU-Jawdeh GM, Trawinski G, Wang HH. Histocytological study of squamous atypia on Pap smears. Mod Pathol. 1994 Dec; 7(9):920-4.

ABATI A, Jaffurs W, Wilder AM. Squamous atypia in the atrophic cervical vaginal smear: a new look at an old problem. Cancer. 1998 Aug 25; 84(4):218-25.

ADAD SJ, Souza MA, Etchebehere RM, Saldanha JC, Falco VA, Murta EF. Cyto-histological correlation of 219 patients submitted to surgical treatment due to diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia. S Paulo Med J 1999; 117:81-4

ALFARO FERRERES, Luis. GARCÍA ROJO, Marcial. PURAS GIL, Ana María. Manual de Telepatología. Sociedad Española de Anatomía Patológica. Pamplona. 2001. 249 p.

CASTLEMAN. Keneth. R. Digital Image Processing. Prentice Hall. Upper Saddle River, NJ. 1996. 667 p.

CORTÉS GABAUDAN, Francisco. Diccionario Médico Bibliográfico. Universidad de Salamanca. Junio 2004. <http://clasicas.usal.es/dicciomed/>.

CORREDOR MONTAGUT, Martha Vitalia. Principios de Inteligencia Artificial & Sistemas Expertos. Universidad Industrial de Santander. 2000. 88p

CREASMAN, WT. Disaia, P.J. Oncología ginecológica clínica. Quinta Edición. Mosby Company. USA. 1997.

DEMUTH, Howard. BEALE, Mark. Neural Network Toolbox. User's guide. The Mathworks Inc. 1997. 700 p.

Diccionario General de la Lengua Española Vox. Spes Editorial. 2002.
www.diccionarios.com

DOUGHERTY, Edward R. Mathematical Morphology in Image Processing. Marcel Dekker Inc. 1993. 529p.

FAHEY MT, Irwing L, Macaskill. Metaanalysis of Pap test accuracy. Am J Epidemiol 1995; 141(7): 680 686.

GIARDINA R, Charles. DOUGHERTY, Edward R. Morphological Methods in Image and Signal Processing. Prentice Hall. 1988. 321 p.

GONZÁLEZ Rafael C, WOODS Richard E. Tratamiento Digital de Imágenes. Addison Wesley / Diaz de Santos.1996. 773p.

GUERRINI L, Sama D, Visani M, Cotignoli T, Sintoni C, Maioli P, Lanzaova G, Schincaglia P. Is it possible to define a better ASCUS class in cervicovaginal screening? A review of 187 cases. Acta Cytol. 2001 Jul-Aug; 45(4): 532-6.

HAKAMA M, Miller AB, Day NE, eds. Screening for cancer of the uterine cervix. IARC Scientific Publications num. 76. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 1986.

HOWELL LP, Davis RL. Follow-up of Papanicolaou smears diagnosed as atypical squamous cells of undetermined significance. Diagn Cytopathol. 1996 Feb; 14(1):20-4.

HUDSON, Donna L. COHEN Maurice. Neural Networks and Artificial Intelligence for Biomedical Engineering. New York. IEEE Press Series in Biomedical Engineering. 1999. 305 p

HUSSAIN, Zahid. Digital Image Processing. Ellis Horwood. 1991. 406 p.

Image Processing Toolbox. User's guide. The Mathworks Inc. 2003. 831 p.

INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA. Guías de práctica clínica en enfermedades neoplásicas. Ministerio de Salud. Bogota. Colombia 2001.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS. Normas Colombianas para la presentación de de tesis, trabajos de grado y otro trabajos de investigación. Quinta actualización. Bogotá D.C. ICONTEC. 2002. NTC 1486.

JACOBSON, Ivar. BOOCH, Grady, RUMBAUGH, James. El Proceso Unificado de Desarrollo de Software. Editorial Addison Wesley. 2000.438 p.

JAIN, Anil K. Fundamentals of Digital Image Processing. Prentice Hall. 1989. 569 p.

JANERICH D, Hadjimichael O, Schwartz PE, Lowell DM, Meigs W, Merino MJ, Flannery JT, Polednak AP. The screening histories of women with invasive cervical cancer. Connecticut. Am J Public Health 1995; 85: 791794

LASPRILLA, María del Carmen. TORRES, Yezid. Caracterización y Pre-Clasificación de Zonas de Interés en Fotografía Aérea. Tesis de Postgrado. Bucaramanga 1989. 114p.

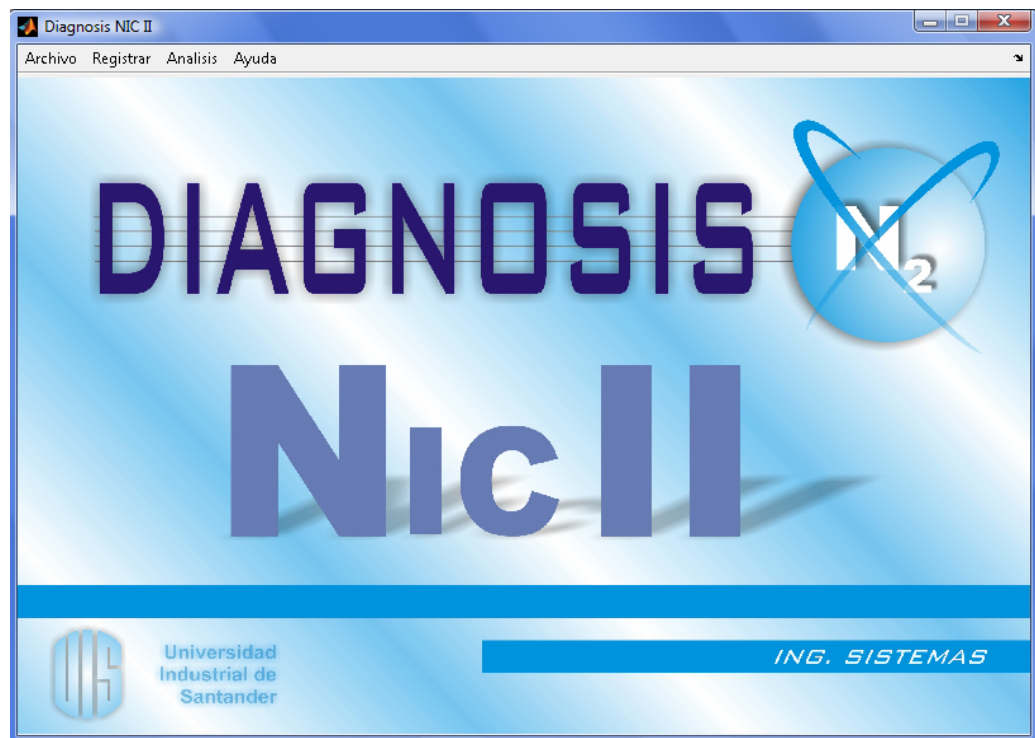
ANEXOS

ANEXOS

ANEXO A. MANUAL DE USUARIO

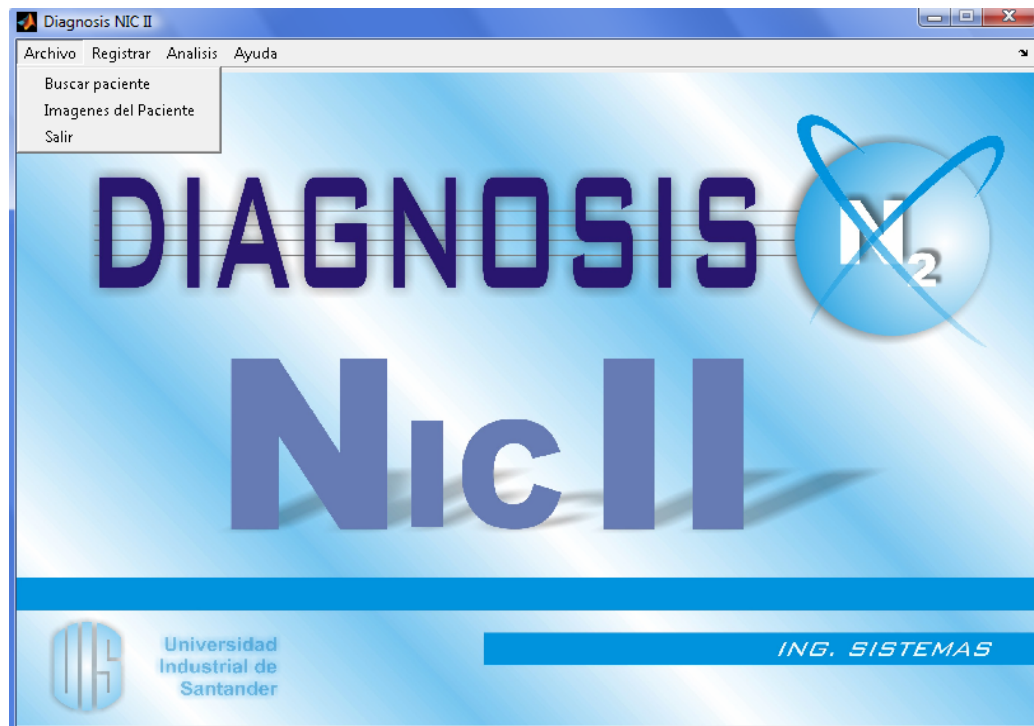
- **Ventana Principal**

La primera ventana con la que interactúa el usuario, es la ventana principal. Ella cuenta en la parte superior con (4) menús que son: Archivo, Registrar, Analisis y Ayuda.

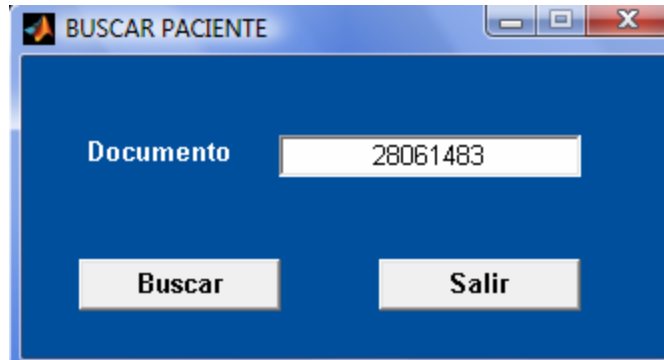


El primer menú, Archivo, despliega las opciones de:

- **Buscar Paciente:** Nos permite el acceso a los datos de un paciente ya registrado.
- **Imágenes del Paciente:** Nos permite ver el contenido y la visualización de imágenes ya registradas de un paciente determinado.
- **Salir:** Nos permite salir del programa.



- **Menú Buscar Paciente:** cuando escogemos la opción de 'Buscar Paciente' del Menú Archivo, se visualiza una ventana 'BUSCAR PACIENTE', la cual nos preguntará el número de identificación del paciente del cual queremos ver información.



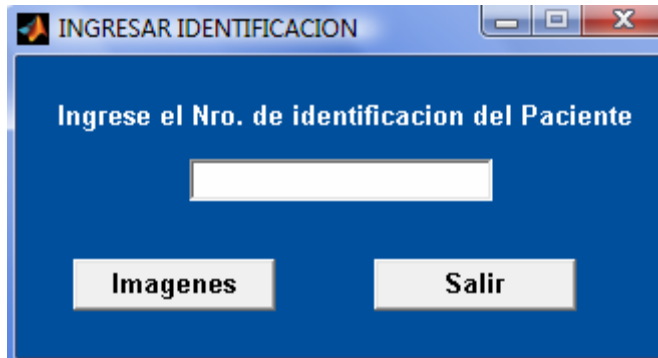
Al dar click en la opción 'Buscar', se visualiza una ventana 'Datos del Paciente', en donde nos muestra los datos personales, la Historia Clínica del paciente al cual corresponde dicho número de cédula, y tres botones: Modificar Datos, Borrar Paciente y Salir.

- Modificar Datos: Me permite cambiar o corregir la información que ya ha sido registrada a un determinado paciente
- Borrar Paciente: Me permite eliminar de la base de datos toda la información correspondiente a dicho paciente.
- Salir: Me permite salir de la ventana 'Datos del Paciente'.

DATOS DEL PACIENTE

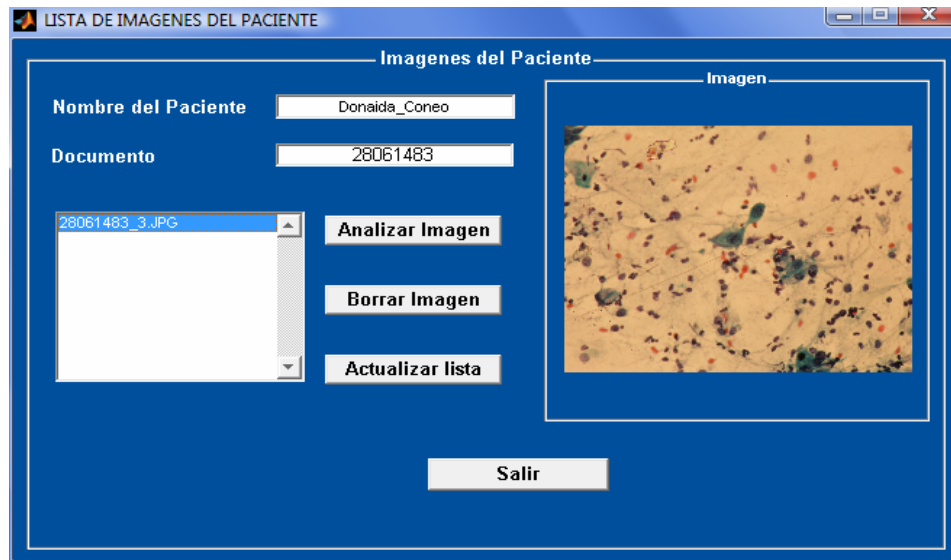
Datos Personales	Historia Clínica	
<p>Nombre: <input type="text" value="Donaida"/></p> <p>Apellido: <input type="text" value="Coneo"/></p> <p>Documento: <input type="text" value="28061483"/></p> <p>De: <input type="text" value="Barrancabermeja"/></p> <p>Fecha de Nacimiento: <input type="text" value="24"/> <input type="text" value="Abril"/> <input type="text" value="1981"/></p> <p>Dirección: <input type="text" value="Calle 61 No.18c10"/></p> <p>Teléfono: <input type="text" value="6026103"/></p>	<p>ETS</p> <p><input type="checkbox"/> Clamidia <input type="checkbox"/> Gonorrea</p> <p><input type="checkbox"/> Herpes <input type="checkbox"/> Sífilis</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> VPH <input type="checkbox"/> Otros</p> <p><input type="checkbox"/> Ninguno <input type="text"/></p>	<p>Metodos Anticonceptivos</p> <p><input type="checkbox"/> DIU <input type="checkbox"/> Inyeccion</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Preservativo <input type="checkbox"/> Pastillas</p> <p><input type="checkbox"/> Ninguno</p>
	<p><input type="checkbox"/> Aborto</p> <p><input type="checkbox"/> Posmenopausica</p> <p><input type="checkbox"/> Antecedentes de lesion intraepitelial</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Sexualmente Activa</p> <p>Fecha Ultima Mestruacion: <input type="text" value="27"/> <input type="text" value="Junio"/> <input type="text" value="2008"/></p>	<p>Tratamientos en Cuello Uterino</p> <p><input type="checkbox"/> Radioterapia</p> <p><input type="checkbox"/> Crioterapia</p> <p><input type="checkbox"/> Medico</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Conizacion</p> <p><input type="checkbox"/> Histerectomia</p>
<p><input type="button" value="Modificar Datos"/> <input type="button" value="Borrar Paciente"/> <input type="button" value="Salir"/></p>		

- **Menú Imágenes del Paciente:** Cuando escogemos la opción 'Imágenes del Paciente' del menú 'Archivo', se visualiza la ventana 'Ingresar Identificación', donde debemos ingresar el número de identificación del Paciente al cual deseamos observar las imágenes pertenecientes.



Al dar click en la opción 'Imagenes', se visualiza la ventana 'Lista de Imágenes del Paciente', en donde nos muestra datos personales del paciente como su nombre y cedula, un listado de imágenes registradas, y cuatro botones: Analizar Imagen, Borrar Imagen, Actualizar Lista y Salir.

- Analizar Imagen: me dirige a la ventana 'Análisis de la Imagen' donde se le va a realizar el análisis a la imagen seleccionada del listado que se visualiza en esta.
- Borrar Imagen: elimina una imagen seleccionada del listado de Imágenes. Aquí la imagen se elimina internamente en la base de datos pero no visualmente en la ventana. Para verificar que sí se eliminó la imagen recurrimos al botón 'Actualizar Lista'.
- Actualizar Lista: Me visualiza el listado actual de imágenes pertenecientes a un determinado paciente.
- Salir: Me permite salir de dicha ventana.



- **Menú Registrar**

El segundo menú, Registrar, despliega las opciones de: Registrar Paciente y Registrar Imagen.



- **Menú Registrar Paciente:** Al escoger la opción de Registrar Paciente del menú 'Registrar', esta nos direcciona a la ventana 'Registrar Paciente' donde nos permite ingresar información correspondiente a Datos Personales e Historia Clínica de un nuevo Paciente.
Esta ventana además de los campos vacíos que van a ser llenados, contiene tres botones: Registrar, Registrar Imagen y Salir.
- Registrar: Una vez llenados los campos correspondientes al nuevo paciente, damos click en este botón para verificar el ingreso a la base de datos de la información de este.
- Registrar Imagen: Una vez registrado el nuevo paciente se le permite al usuario seguidamente registrar nuevas imágenes correspondientes a este.
- Salir: me permite salir de la ventana actual.

- **Menú Registrar Imagen:** al entrar en la opción 'Registrar Imagen', me direcciona a la ventana 'Buscar Paciente', donde debemos ingresar la identificación del paciente al cual deseamos registrar nuevas imágenes.

Al dar click en el botón 'Registrar Imagen' me direcciona a la ventana 'Registrar Imagen'. Donde se visualiza los campos correspondientes al Nombre del Paciente y al Documento de identificación, contiene los campos de la fecha de la toma (fecha en la que se hace registro de la imagen más no la fecha de la citología) de la imagen, el campo donde se digitará la dirección donde se encuentra ubicada la imagen en el ordenador y cuatro botones: Examinar, Registrar Imagen, Ver lista de Imágenes y Salir.

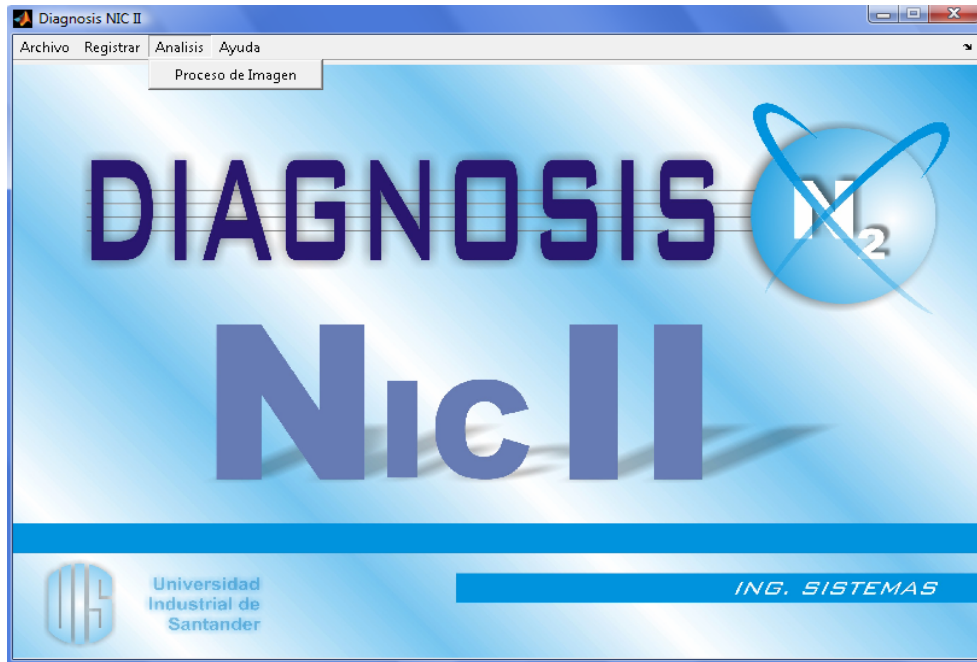
- Examinar: Permite buscar la dirección del ordenador donde se encuentra la imagen que se desea registrar.
- Registrar Imagen: verifica que la imagen ingresada fue registrada correctamente en la base de datos.
- Ver lista de imágenes: me direcciona a la ventana 'Lista de Imágenes del Paciente', donde se podrá observar las imágenes que están siendo ingresadas para su posterior análisis.
- Salir: me permite salir de la ventana actual.

The image shows a software window titled "REGISTRAR IMAGEN" with a blue background. The window contains the following elements:

- Nombre del Paciente:** A text input field containing "Donaida_Coneo".
- Documento:** A text input field containing "28061483".
- Fecha de la Toma:** Three dropdown menus labeled "Dia", "Mes", and "Año".
- Registro de Imagen:** A central panel containing:
 - An "Imagen" label next to an empty text input field.
 - An "Examinar" button to the right of the input field.
 - A "Registrar Imagen" button centered below the input field.
- Bottom Panel:** Two buttons: "Ver lista de imagenes" and "Salir".

- **Menú Analisis**

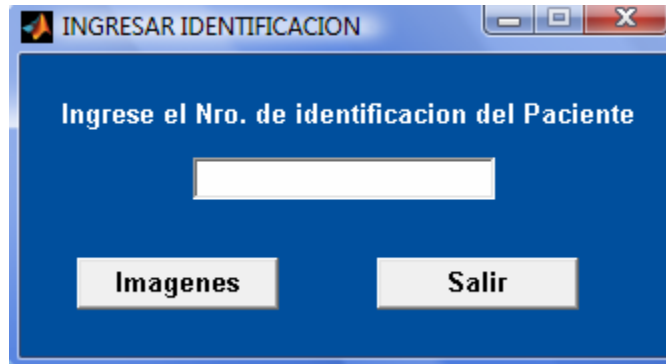
El tercer menú, Analisis, despliega la opción 'Proceso de Imagen'.



Al ingresar en la opción de 'Proceso de Imagen' del menú 'Análisis' nos direccionamos a la ventana 'Ingresar Identificación', donde debemos digitar el número de identificación del Paciente al cual se le va a buscar una imagen registrada para su posterior análisis.

Esta ventana cuenta con dos botones: Imágenes y Salir.

- Imágenes: me direcciona a la ventana 'Lista de imágenes del Paciente', donde se escoge la imagen a analizar.
- Salir: me permite salir de la ventana actual.

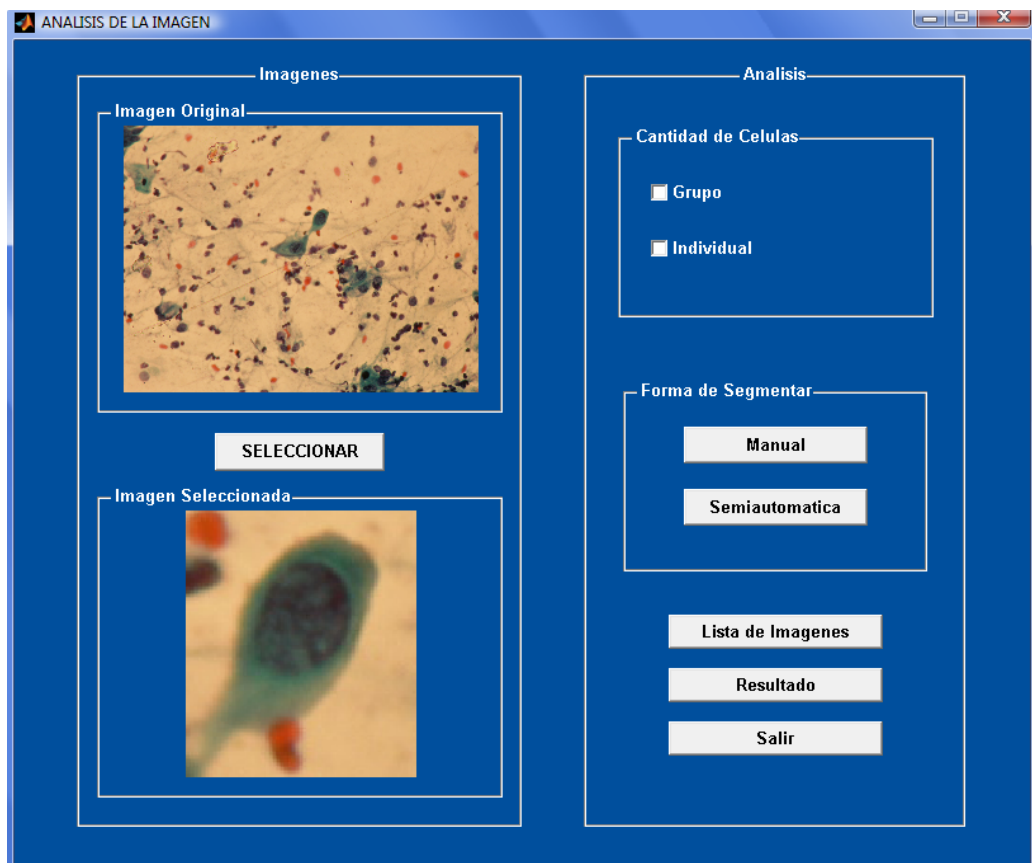


Una vez escogida la imagen a analizar en la ventana 'Lista de imágenes del Paciente' me direcciono por medio del botón 'Analizar Imagen' a la ventana 'Análisis de la Imagen'.

Esta ventana está dividida en dos secciones: Imágenes y Análisis. En la sección de 'Imágenes' se visualiza la imagen que será analizada y la porción de imagen que se cortó de la imagen anterior. En la sección de 'Análisis' es donde escogemos la cantidad de células que serán evaluadas en la porción de imagen y la forma de segmentar dicha imagen. Para la cantidad de células manejamos dos opciones: Grupo e Individual. Y para segmentar damos la opción de dos formas: Manual y Semiautomática.

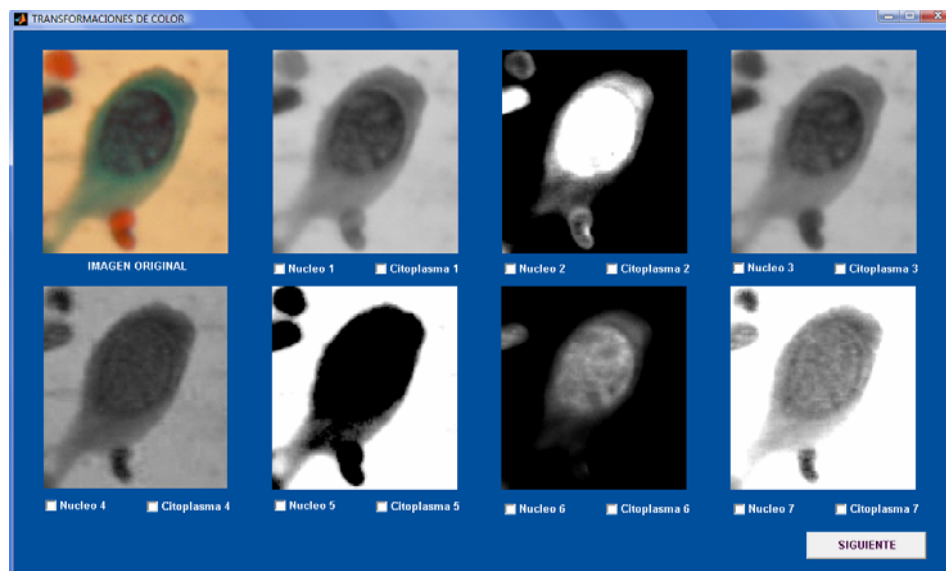
Adicionalmente esta ventana consta de 3 botones: Lista de imágenes, Resultado y Salir

- Lista de imágenes: me retorna a la ventana 'Lista de imágenes del Paciente' en caso de que se quiera escoger otra imagen para su análisis.
- Resultado: Me direcciona a la ventana 'Resultados', donde me va arrojar el resultado final de la caracterización de la célula, es decir, me debe arrojar uno de dos resultados: 'La célula cumple con los parámetros establecidos para NICII' o 'La célula NO cumple con los parámetros establecidos para NICII'.
- Salir: Me permite salir de la ventana actual.

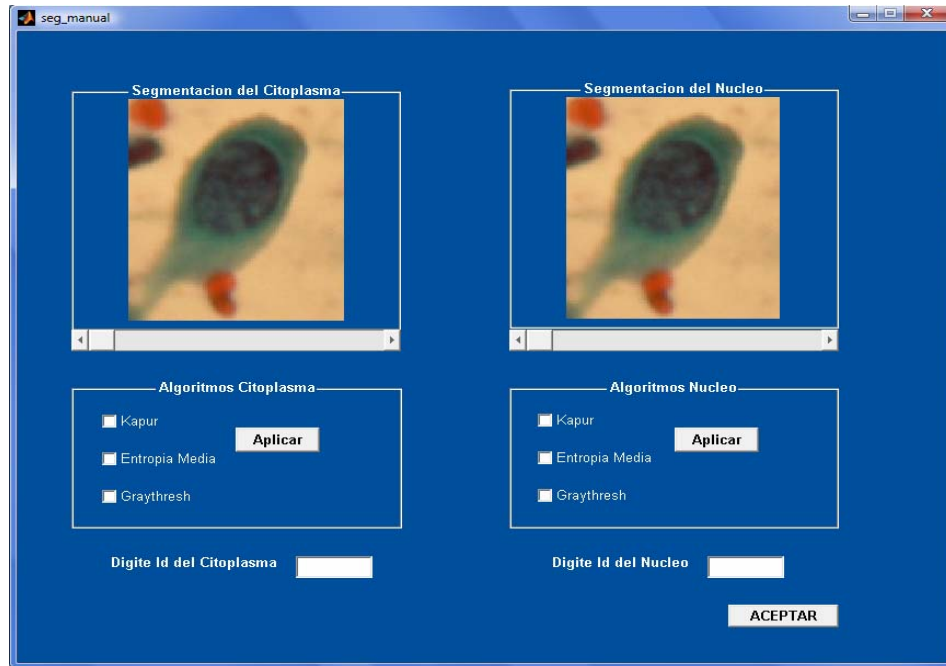


La forma Manual está dirigida a aquellos usuarios que manejan conceptos sobre Tratamiento Digital de Imágenes ya que en esta parte le damos la opción de escoger la Transformada de Color que mejor le parezca para su posterior segmentación, y a su vez se le da la opción de escoger el algoritmo de segmentación que mejor aplique a dicha imagen. Entre las clases de algoritmos a escoger tenemos: Método de Pun-Kapur, Entropía Media y Graythresh.

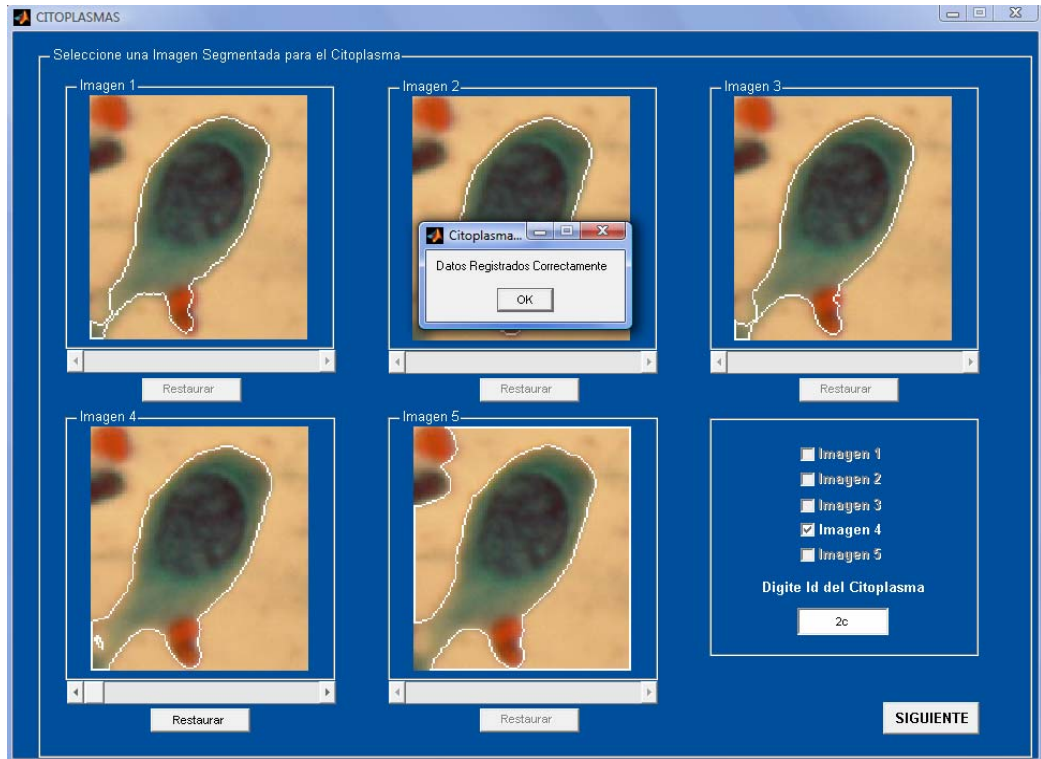
Esta es la ventana donde se escoge la transformada de color tanto para el núcleo como para el citoplasma:

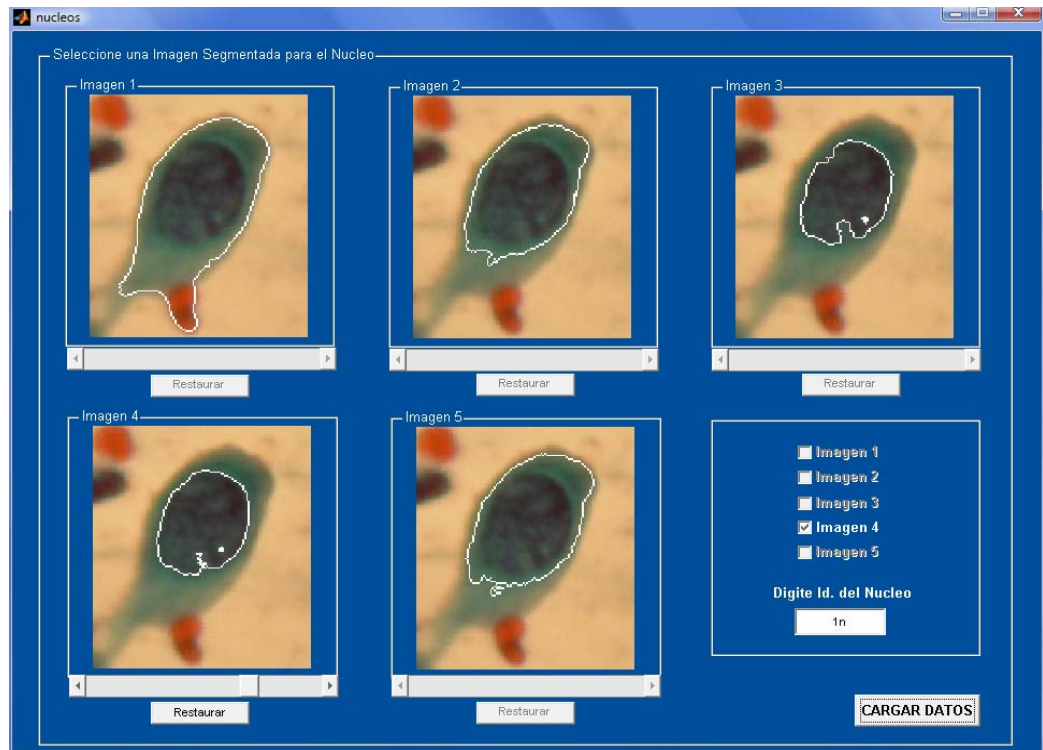


Y esta es la ventana donde se escoge el algoritmo de segmentación para el núcleo y para el citoplasma:



La forma Semiautomática está dirigido a aquel tipo de usuario que le pueda parecer un poco engorroso esta teoría del Tratamiento Digital de Imágenes, facilitándole el proceso de segmentación. En esta parte el usuario sólo tiene que escoger la imagen que mejor trace el área del citoplasma y el área del núcleo. Para esta selección se diseñaron dos ventanas, una para la selección del citoplasma y la otra para la selección del núcleo.

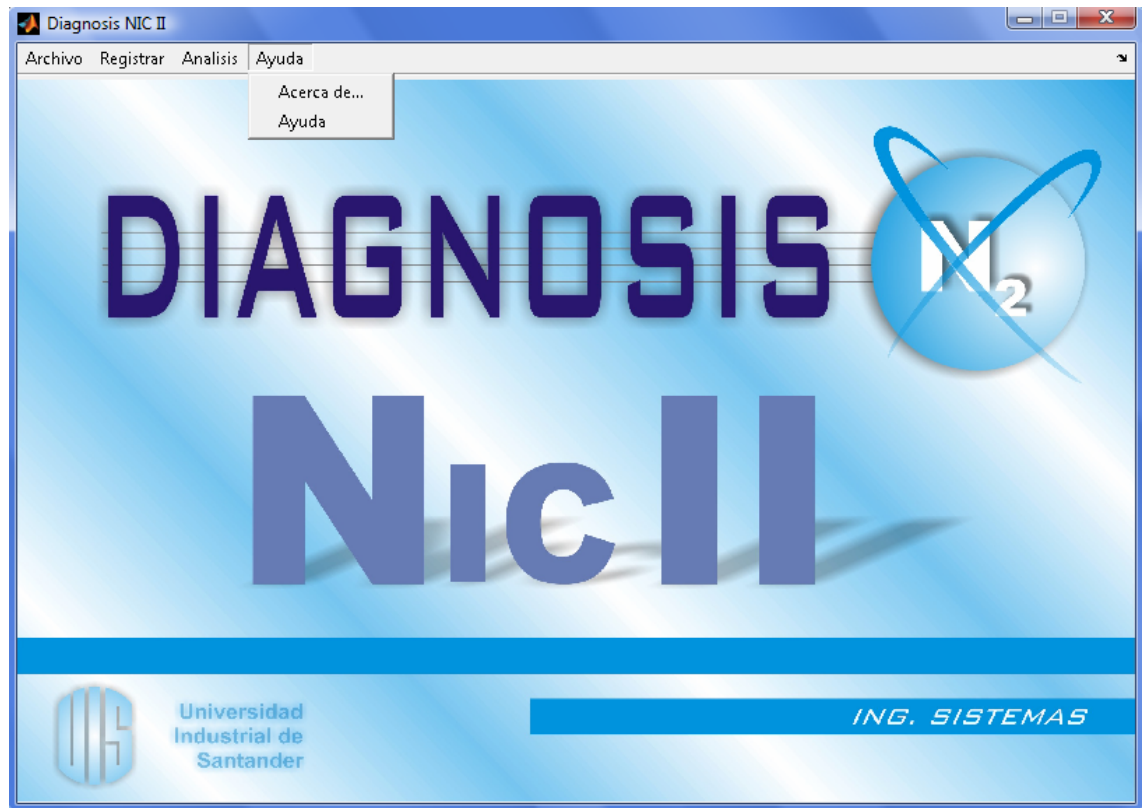




- Menú Ayuda

Y finalmente visualizamos el Menú 'Ayuda', este despliega dos opciones: el 'Acerca de' y 'Ayuda'.

- Acerca de: Muestra información básica acerca del software.
- Ayuda: me redirecciona a una página en formato html, donde se puede encontrar ayuda para el manejo del software.



ANEXO B. REQUERIMIENTOS DEL SISTEMA

Requerimientos de Hardware:

- Procesador : 2.4 GHz en adelante.
- Memoria RAM: 512MB.
- Disco Duro: 80GB.
- Unidad Cd-Rom.

Requerimientos de Software:

- Motor de base de datos MySQL.
- Matlab 7.1 Toolbox Image Processing.