

**CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO DE CÉLULAS ESCAMOSAS DE CITOLOGÍA
CERVICO UTERINAS QUE PRESENTAN CAMBIOS POR VIRUS DE
PAPILOMA HUMANO (VPH), POR MEDIO DE TRATAMIENTO DIGITAL DE
IMÁGENES**

**MARTHA LUCÍA AMAYA RAMÍREZ
OLGA MARÍA MOLINA MENESES**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICO MECÁNICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA DE SISTEMAS E INFORMÁTICA
BUCARAMANGA
2006**

**CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO DE CÉLULAS ESCAMOSAS DE CITOLOGÍA
CERVICO UTERINAS QUE PRESENTAN CAMBIOS POR VIRUS DE
PAPILOMA HUMANO (VPH), POR MEDIO DE TRATAMIENTO DIGITAL DE
IMÁGENES**

**MARTHA LUCÍA AMAYA RAMÍREZ
OLGA MARÍA MOLINA MENESES**

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

Director:

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

Codirectores:

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

**Ernesto García Ayala.
MD. Especialista en Patología**

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

2006

A mis Padres y Hermana
por ser vida, amor, ejemplo e inspiración

(Martha Lucía)

A mis padres porque lo existente es poco
para agradecerles por todo lo que me han dado y enseñado.

A Pipe por ser mi hermano y a la vez mi amigo.

A Sandra y Liliana por la gran confianza que existe entre nosotras.

(Olga María)

AGRADECIMIENTO

A nuestras familias por el amor y el apoyo incondicional.

A Dios por habernos unido en el proyecto y nunca abandonarnos.

A la UIS por abrirnos las puertas a un mejor futuro

Al Profesor Alfonso Mendoza Castellanos por la confianza y la paciencia.

A la Doctora Olga Mercedes Álvarez por ser una tercera integrante en el proyecto.

Al Doctor Ernesto García Ayala por la disposición y colaboración.

Al Ingeniero Víctor Eduardo Martínez Abaunza por las cosas aprendidas, la tolerancia y acompañamiento.

Al grupo GIIB por adoptarnos.

A los Ingenieros Fredy Alexander Estepa Martínez y Alexi Caballero Esteban por la amistad y el aporte en conocimiento.

A los Ingenieros Eddie López y Mario Gómez por la contribución académica.

A nuestros amigos por siempre estar ahí.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	33
1. PRESENTACIÓN DEL PROYECTO	35
1.1 OBJETIVOS	35
1.1.1 Objetivo general	35
1.1.2 Objetivos específicos	35
1.2 JUSTIFICACIÓN	36
1.2.1 Definición Del Problema.	36
1.2.2 Impacto Esperado.	40
1.2.3 Viabilidad.	41
2. MARCO CONCEPTUAL	42
2.1 VIRUS DE PAPILOMA HUMANO (VPH)	42
2.1.1 Epidemiología	42
2.1.2 Etiología y Patogénia	45

2.1.3 Morfología	54
2.1.4 Detección	60
2.1.4.1 Citología cervicouterina	60
2.1.4.2 Citología en medio líquido	63
2.1.4.3 Colposcopia	65
2.1.4.4 Hibridación Molecular	66
2.1.4.5 Sistema basado en la reacción en cadena de la Polimerasa (PCR)	66
2.1.5 Tratamiento y seguimiento	67
2.1.5.1 Tratamiento de condilomas	67
2.1.5.2 Lesión intraepitelial de bajo grado asociada a VPH	67
2.1.5.3 Lesión intraepitelial de alto grado asociada a VPH	68
2.1.5.4 Vacunas	68
2.2 TRATAMIENTO DIGITAL DE IMÁGENES	69
2.2.1 Fundamentos	69
2.2.2 Adquisición de la imagen	72

2.2.3	Preprocesamiento	73
2.2.3.1	Procesamiento por punto	74
2.2.3.2	Filtros de frecuencia espacial	74
2.2.3.3	Filtrado en el dominio de la frecuencia	74
2.2.4	Segmentación	75
2.2.4.1	Discontinuidad	76
2.2.4.2	Similitud	76
2.2.4.3	Morfología matemática	77
2.2.5	Descripción	80
2.2.5.1	Descriptores de frontera o borde	81
2.2.5.2	Descriptores de región	82
2.2.6	Reconocimiento e interpretación	84
2.2.6.1	Decisión teórica	84
2.2.6.2	Reconocimiento	84
2.2.6.3	Interpretación de imágenes	84

3. METODOLOGÍA DE DESARROLLO	86
3.1 METODOLOGÍA	86
3.1.1 Etapa de inicio	86
3.1.1.1 Alcance	86
3.1.1.2 Identificación de riesgos	87
3.1.1.3 Actores Participes	87
3.1.2 Etapa de Elaboración	88
3.1.3 Etapa de Construcción	89
3.1.4 Etapa de Transición	101
4. RECOLECCIÓN Y ADQUISICIÓN	103
4.1 RECOLECCIÓN DE MUESTRAS	103
4.2 ADQUISICIÓN DE IMÁGENES	103
5. PREPROCESAMIENTO	105
6. TRANSFORMACIÓN DEL ESPACIO DE COLOR	109
6.1 ESPACIO RGB	109

6.2 ESPACIO YIQ	110
6.3 ESPACIO CIELAB (L*a*b)	111
6.4 ESPACIO HLS	113
7. SEGMENTACIÓN	117
7.1 SEGMENTACIÓN DEL CITOPLASMA	117
7.1.1 Umbralización	118
7.1.2 Morfología matemática	119
7.2 SEGMENTACIÓN DEL NÚCLEO	121
7.3 SEGMENTACIÓN DEL HALO	123
8. DESCRIPCIÓN	124
8.1 DESCRIPTORES DEL CITOPLASMA Y DEL HALO	124
8.2 DESCRIPTORES DEL NÚCLEO	124
8.2.1 Circularidad	125
8.2.2 Regularidad	125
8.2.3 Coloración	127

8.2.4 Textura	127
8.2.4.1 Media	127
8.2.4.2 Varianza	128
8.2.4.3 Desviación Estándar	128
8.2.4.4 Correlación	128
8.2.4.5 Entropía	129
8.2.4.6 Uniformidad o energía	129
8.2.4.7 Homogeneidad	129
8.2.4.8 Contraste o Momento de diferencia de orden dos	129
8.2.4.9 Disimilaridad o Momento de diferencia de orden uno	130
9. RECONOCIMIENTO	131
9.1 CITOPLASMA Y HALO	131
9.2 NÚCLEO	132
10. BASE DE DATOS	135
11. MODELO COMPUTACIONAL	137

12. RESULTADOS	140
13. ANÁLISIS DE RESULTADOS	145
14. FUNCIONAMIENTO DE LA HERRAMIENTA SOFTWARE	150
14.1 FORMULARIO PRINCIPAL	151
14.2 MENÚ ARCHIVO	151
14.2.1 Sub-Menú Registrar Paciente	152
14.2.2 Sub-Menú Actualizar Datos Paciente	153
14.2.3 Sub-Menú Abrir Imagen	154
14.3 MENÚ ANALIZAR	156
14.3.1 Sub-Menú Filtrar	157
14.3.2 Sub-Menú Segmentar	159
14.4 MENÚ RESULTADOS	164
14.4.1 Sub-menú Citoplasma	164
14.4.2 Sub-menú Núcleo	166
14.4.3 Sub-menú halo	169

14.5 MENÚ INFORME FINAL	170
14.5.1 Sub-menú Diagnóstico	170
14.5.2 Sub-menú Guardar Datos	172
14.6 MENÚ AYUDA.	172
14.7 HISTORIAL DEL PACIENTE	174
15. CONCLUSIONES	176
16. RECOMENDACIONES	177
BIBLIOGRAFÍA	178
ANEXO A. Clasificación de lesiones premalignas	185
ANEXO B. Comparación incidencia y mortalidad de los tipos de cáncer	186
ANEXO C. Valores muestra usados en el entrenamiento de la red neuronal para distinción de uniformidad en la cromatina del núcleo	187
ANEXO D. Valores muestra usados en el entrenamiento de la red neuronal para distinción de uniformidad en la coloración del núcleo	188
ANEXO E. Comportamiento de las redes neuronales durante el entrenamiento	189

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Factores de riesgo de cáncer cervical: Infección por VPH vs. Persistencia y Transformación Maligna.	44
Tabla 2. Productos del Gen viral y Funciones Relacionadas	48
Tabla 3. Lesiones comunes de Virus de Papiloma Humano	50
Tabla 4. Anomalías celulares epiteliales.	54
Tabla 5. Rasgos citomorfológicos de la infección por VPH	59
Tabla 6. Síntesis Etapas del Procesamiento de Imágenes.	85
Tabla 7. Evaluación de los métodos de segmentación para el citoplasma	140
Tabla 8. Contraste de los métodos de segmentación para el núcleo.	141
Tabla 9. Evaluación para el método de detección de hiper cromatismo	142
Tabla 10. Evaluación para el método de análisis de textura.	142
Tabla 11. Evaluación para el método de análisis de citomegalia.	143
Tabla 12. Análisis de aumento en el tamaño del núcleo	143
Tabla 13. Análisis de regularidad del contorno nuclear	144
Tabla 14. Clasificación de las lesiones premalignas del cuello	185

Tabla 15. Ejemplo de datos usados para entrenamiento de la red del núcleo
(Cromatina Uniforme) 187

Tabla 16. Ejemplo de datos usados para entrenamiento de la red del núcleo
(uniformidad en la coloración) 188

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Papel del VPH en la carcinogénesis del cuello uterino y sus repercusiones en la población mundial.	43
Figura 2. Relación entrada – progresión de la infección por VPH; integración del genoma viral con los grados de neoplasia intraepitelial.	46
Figura 3. Esquema de la organización del genoma del VPH	47
Figura 4. Pasos en la patogenia de la neoplasia cervical	51
Figura 5. Manifestación subclínica del VPH.	53
Figura 6. Representación del cuello uterino	55
Figura 7. Representación del epitelio escamoso.	56
Figura 8. Representación de un coilocito, principal indicador del VPH	58
Figura 9. Lámina de muestra de la citología y esquema de toma	62
Figura 10. Influencia en el tiempo del tratamiento digital de imágenes.	70
Figura 11. Etapas fundamentales del tratamiento de imágenes.	72
Figura 12. Ejemplo de formas básicas de elementos estructurantes planos.	78
Figura 13. Representación de la dilatación con su elemento estructurante.	79

Figura 14. Representación de la erosión con su elemento estructurante.	79
Figura 15. Diagrama de casos de Uso para etapa de inicio.	87
Figura 16. Diagrama del modelo de Casos de Uso.	88
Figura 17. Diagrama del modelo de análisis.	89
Figura 18. Diagramas de Actividades.	100
Figura 19. Materiales y Métodos para la adquisición de Imagen	104
Figura 20. Filtro Mediana.	105
Figura 21. Filtro Promedio.	106
Figura 22. Filtro Promedio circular.	106
Figura 23. Filtro Gaussiano.	107
Figura 24. Filtro Rotacional.	107
Figura 25. Filtro Unsharp.	108
Figura 26. Espacio de color RGB	109
Figura 27. Transformación de RGB a YIQ en células.	110
Figura 28. Espacio de color CIELAB	112
Figura 29. Transformación de RGB a CIELAB en células	113

Figura 30. Espacio de color HLS	114
Figura 31. Representación gráfica de las propiedades del HLS	115
Figura 32. Transformación de RGB a HLS en células	116
Figura 33. Segmentación del Citoplasma	120
Figura 34. Diseño de red neuronal para la selección del umbral en los métodos automáticos de segmentación del citoplasma.	121
Figura 35. Diseño de red neuronal para la selección del umbral en los métodos automáticos de segmentación del núcleo	122
Figura 36. Segmentación del Núcleo	122
Figura 37. Segmentación del Halo	123
Figura 38. Objeto regular e irregular respectivamente.	125
Figura 39. Cálculo de la Regularidad	126
Figura 40. Reglilla de conversión de píxeles a micras	130
Figura 41. Base de Datos.	136
Figura 42. Modelo computacional	139
Figura 43. Ejecución de la herramienta en la línea de Comandos Matlab.	150
Figura 44. Ventana Principal	151

Figura 45. Menú Archivo	152
Figura 46. Registrar Paciente	153
Figura 47. Actualizar Datos	154
Figura 48. Abrir Imagen.	155
Figura 49. Imagen principal menú Archivo.	155
Figura 50. Imagen Seleccionada.	156
Figura 51. Menú Analizar	157
Figura 52. Sub-Menú Filtrar	158
Figura 53. Imagen filtrada	158
Figura 54. Segmentación Núcleo y Citoplasma	159
Figura 55. Comparación del Citoplasma.	160
Figura 56. Comparación del Núcleo	160
Figura 57. Métodos manuales para núcleo y citoplasma	161
Figura 58. Puntos de la segmentación del Halo	162
Figura 59. Finalización segmentación del halo	162
Figura 60. Detalles segmentación del halo	163

Figura 61. Selección del botón no para existencia del halo	163
Figura 62. Menú Resultados	164
Figura 63. Sub-menú Resultados Citoplasma	165
Figura 64. Resultados Parámetros del Citoplasma	165
Figura 65. Resultados Relaciones Citoplasma	166
Figura 66. Sub-menú Resultados del Núcleo	167
Figura 67. Resultados Parámetros del Núcleo.	167
Figura 68. Resultados Textura del Núcleo.	168
Figura 69. Resultados Coloración del Núcleo.	168
Figura 70. Resultados Circularidad y Regularidad del Núcleo	169
Figura 71. Resultados Parámetros del Halo.	170
Figura 72. Menú Informe Final	171
Figura 73. Sub-Menú diagnóstico	171
Figura 74. Sub-menú Guardar datos	172
Figura 75. Menú Ayuda.	173
Figura 76. Sub- menú Ayuda	173

Figura 77. Sub –menú Acerca de	174
Figura 78. Historial del Paciente	175
Figura 79. Comparación incidencia y mortalidad de diferentes tipos de Cáncer en hombres y mujeres.	186
Figura 80. Comportamiento de la red empleada para distinción de uniformidad en la cromatina del núcleo	189
Figura 81. Comportamiento de la red empleada para distinción de uniformidad en la coloración del núcleo	189

LISTA DE ANEXOS

	pág.
ANEXO A. Clasificación de lesiones premalignas	185
ANEXO B. Comparación incidencia y mortalidad de los tipos de cáncer	186
ANEXO C. Valores muestra usados en el entrenamiento de la red neuronal para distinción de uniformidad en la cromatina del núcleo	187
ANEXO D. Valores muestra usados en el entrenamiento de la red neuronal para distinción de uniformidad en la coloración del núcleo	188
ANEXO E. Comportamiento de las redes neuronales durante el entrenamiento	189

GLOSARIO

ACANTOSIS: lesión de la epidermis caracterizada por la aumento del cuerpo mucoso que aparece usualmente hiperpigmentado.

ADENOCARCINOMA IN SITU (AIS): lesión precursora procedente del epitelio cilíndrico.

ANISOCITOSIS: cambio en el tamaño normal de la célula.

BASOFÍLICO: que presenta alto grado de coloración.

BINARIZACIÓN: consiste en pasar una imagen que inicialmente puede estar a color, primero a escala de grises y después a blanco y negro.

BIOPSIA: es la observación bajo el microscopio del tejido extirpado, por ejemplo, del cuello uterino.

CANCER CERVICAL: crecimiento maligno que ocurre en el cuello del útero. También llamado Cáncer de Cuello Uterino.

CÁNDIDA: honguillo que produce irritaciones e infecciones, especialmente en las membranas mucosas del cuerpo como la boca, la vagina y el ano.

CÁPSIDE: estructura proteica en cuyo interior se encuentra el material genético del virus.

CARCINOMA EXOFÍTICO: carcinoma con marcado crecimiento hacia afuera, como el de una verruga o un papiloma.

CARCINOMA IN SITU: cáncer que afecta sólo las células en donde comenzó y que no se ha diseminado a tejidos vecinos.

CARIOMEGALIA: rara condición patológica caracterizada por la alteración del núcleo de varios tipos de células.

CÉLULAS EPITELIALES: una de muchas clases de células que forman el epitelio, absorben los nutrientes y ayudan a proteger los órganos.

CÉLULAS ESCAMOSAS: células delgadas y planas que forman el revestimiento del cuello.

CÉLULAS ESCAMOSAS ATÍPICAS (ASCUS): células escamosas atípicas de importancia no determinada que indican anomalías leves y de naturaleza es incierta.

CÉLULAS GLANDULARES (AGC): células que producen moco y que se localizan dentro de su cérvix o dentro de su útero.

CERVICITIS (CRÓNICA): inflamación del cuello uterino que por lo general se presenta como consecuencia de infecciones pero también de exposición a químicos o por la presencia de un cuerpo extraño.

CERVIX: el extremo inferior estrecho del útero que forma un canal entre el útero y la vagina. También se conoce como cuello uterino o cuello del útero.

CHLAMYDIA TRACHOMATIS: infección bacteriana que se contagia a través del contacto sexual con una persona infectada.

CITOQUERATINAS: son importantes componentes del citoesqueleto de casi todas las células epiteliales, así como de algunos tipos de células no epiteliales.

COILOCITOSIS: presencia de coilocitos anormales, a menudo observados en las infecciones por papilomavirus humanos en las capas epiteliales del cuello uterino o de los genitales externos.

CRIOCIROGÍA: es la congelación a bajas temperaturas de un tejido con el fin de destruirlo.

CROMATINA: material cromosómico que contiene material genético y proteínas y que se encuentra en el núcleo de la célula.

DISPLASIA: células que se ven anormales en el microscopio, pero que no son cancerosas.

DISPLASIA LEVE: llamada también CIN, se presenta cuando las alteraciones se encuentran predominantemente en el tercio basal del epitelio.

DISPLASIA MODERADA: llamada CIN II, se presenta cuando las alteraciones son más acentuadas y abarcan hasta los dos tercios basales del epitelio.

DISPLASIA SEVERA: llamada CIN III, se presenta cuando las alteraciones son aun más acentuadas y comprometen más allá de los dos tercios inferiores del epitelio, pero no todo el espesor.

DISQUERATOCITOS: pequeñas células queratinizantes con núcleos picnóticos agrupadas en nidos o sabanas.

ECTOCÉRVIX: parte externa del cuello del útero, en contacto con el fondo de la vagina.

ELECTROCAUTERIZACIÓN: es el proceso de destrucción de tejidos con el uso de la electricidad.

ENDOCERVIX: parte interna del cuello del útero.

EPIDEMIOLOGÍA: ciencia que estudia como, cuando y porqué una enfermedad se desarrolla en una comunidad humana.

ETIOLOGÍA: es el estudio de las causas de una enfermedad.

FALSO POSITIVO: aquel resultado de la prueba de laboratorio que da "positivo", pero en realidad no existe el virus en el cuerpo.

FALSO NEGATIVO: aquel resultado de la prueba de laboratorio que da "negativo" siendo que el virus sí se encuentra en el cuerpo de la persona.

GENOTIPOS: conjuntos de genes característicos de cada especie vegetal o animal.

HALO PERINUCLEAR: vacuola muy delgada, sutil, alrededor del núcleo. También llamado Halo intracitoplasmático.

HISTOGRAMA: es una representación gráfica de una variable en forma de barras, donde la superficie de cada barra es proporcional a la frecuencia de los valores representados. Señala las marcas de clase, es decir, la mitad del intervalo en el que están agrupados los datos.

HIPERCROMÁTICO: que tiene una mayor densidad de color o pigmentación.

LESIÓN INTRAEPITELIAL ESCAMOSA (SIL): crecimiento anormal de células escamosas en la superficie del cérvix.

LESIONES INTRAEPITELIALES ESCAMOSA DE ALTO GRADO (HSIL): células cervicales severamente anormales que tienen una alta probabilidad de progresar a cáncer cervicouterino.

LESIONES INTRAEPITELIALES ESCAMOSA DE BAJO GRADO (LSIL): lesión donde hay células cervicales anormales más definidas pero aún leves.

NARANJÓFILA: que presenta una coloración anaranjada.

NEOPLASIA: generación de nuevas células que proliferan o se multiplican sin control alguno en un tejido. Crecimiento anormal de células.

NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL: crecimiento de células anormales en la superficie del cérvix. Se pueden usar los números del 1 al 3 para describir qué tanto del cérvix contiene células anormales

P53: codifica para la proteína p53 involucrada en una gran cantidad de cánceres.

PARAQUERATOSIS: formación anormal de células córneas de la epidermis causada por la persistencia de los núcleos, la formación de queratina y la humedad y tumefacción de las células córneas.

PATOGENIA: parte de la medicina que estudia el origen y el desarrollo de las enfermedades.

PERINÉ: perineo o región perineal es la región anatómica del cuerpo humano, situada en el suelo de la pelvis, en la raíz de los miembros inferiores, que tiene forma de rombo.

PÍXEL: abreviatura de elemento de imagen; un punto que representa la menor unidad gráfica de medida de una pantalla.

PROCEDIMIENTO LEEP: (escisión mediante asa electro quirúrgica), también llamado LLETZ, es un tratamiento ambulatorio eficaz para el crecimiento anormal de las células.

RB: codifica para la proteína pRB, involucrada en el retinoblastoma y cánceres de hueso, vejiga, células pequeñas de pulmón y cáncer de mama.

QUERATINA: proteína fibrosa que contiene azufre, principal componente de la epidermis, el pelo, las uñas, el esmalte dentario y el tejido córneo de los animales.

QUERATINOCITO: célula epidérmica que sintetiza queratina y otras proteínas y esteroides.

SEROTIPOS: tipos sanguíneos de un determinado organismo.

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

TRICOMONAS: es una enfermedad transmitida sexualmente (ETS) causada por microorganismos. Infecta a las mujeres y a los hombres, pero provoca más síntomas en la mujer.

UMBRAL: expresa el nivel de diferencia entre píxeles adyacentes para que el filtro sea aplicado o no. Si es un valor muy bajo, el filtro actuará sobre toda la imagen generando ruido en las zonas plenas o con poco contraste. Un valor más alto hará que el filtro se aplique sólo en las zonas de transiciones más fuertes.

VAPORACIÓN POR LÁSER: este método usa un láser que concentra un haz de rayos de alta energía para calentar y vaporizar los tejidos con alteraciones.

VIRIÓN: partícula viral completa, madura e infecciosa. Es la unidad estructural de los virus.

VISIÓN ESTEREOSCÓPICA: también llamada visión en tres dimensiones o visión en relieve, resulta de la capacidad del sistema visual de dar aspecto tridimensional a los objetos a partir de las imágenes en dos dimensiones.

RESUMEN

Título: CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO DE CÉLULAS ESCAMOSAS DE CITOLOGÍA CERVICO UTERINAS QUE PRESENTAN CAMBIOS POR VIRUS DE PAPILOMA HUMANO (VPH), POR MEDIO DE TRATAMIENTO DIGITAL DE IMÁGENES*

Autores: Martha Lucía Amaya Ramírez, Olga María Molina Meneses**

Palabra Claves: Tratamiento Digital de Imágenes, Morfología Matemática, Redes Neuronales, Sistema Basado en el Conocimiento, Citología Cervicouterina, Células Escamosas, Cáncer de Cérvix, Virus del Papiloma Humano, Coilocitos.

Descripción: el cáncer de cuello uterino se considera la segunda causa de muerte en la población femenina, convirtiéndose en uno de los problemas de salud que captura la atención de diferentes ramas de la ciencia. La citología cervicouterina se ha utilizado ampliamente como técnica de tamizaje, sin embargo, existen aún dificultades para el reconocimiento de los cambios morfológicos en la infección por VPH el cual es considerado actualmente uno de los factores etiológicos de ésta entidad.

Por tal motivo, el Grupo de Investigación en Ingeniería Biomédica (GIIB), bajo la asesoría del Departamento de Patología de la Universidad Industrial de Santander (UIS), ha realizado una serie de estudios por medio del tratamiento digital de imágenes de la cual hace parte éste proyecto; con el que se pretende contribuir al diagnóstico del Virus de Papiloma Humano en las células a través de una herramienta software asistida.

La metodología del proceso unificado de modelado UML constituye la base para el desarrollo del software, mediante identificación de requerimientos, riesgos y autores y la construcción de los diagramas de casos de uso y actividades. Para la caracterización de la presencia del VPH en las células, se acudió a transformaciones del espacio de color, a técnicas de tratamiento digital de imágenes como umbralización y morfología matemática, y a métodos de inteligencia artificial como redes neuronales y sistema basado en el conocimiento. Se recomienda el acople de éste prototipo a otros proyectos similares para la formación de una herramienta robusta.

* Trabajo de Grado

** Facultad de Ingenierías Físico Mecánicas. Escuela de Ingeniería de Sistemas. Director: Alfonso Mendoza Castellanos. Codirectores: Ernesto García Ayala, Olga Mercedes Álvarez.

ABSTRACT

Title: CONTRIBUTION TO THE STUDY OF SQUAMOUS CELLS IN CERVICAL SMEAR CYTOLOGY THAT PRESENT CHANGES ASSOCIATED BY HUMAN PAPILLOMA VIRUS (HPV) THROUGH A DIGITAL IMAGE PROCESSING.*

Authors: Martha Lucía Amaya Ramírez, Olga María Molina Meneses**

Key Words: Digital images Processing, Mathematic Morphology, Neural Networks, Knowledge-Based System, Squamous cells, Cervical Smear Cytology, Cervical Cancer, Human Papilloma-virus, Koilocytic Cells.

Description: The Cervical cancer is considered as the second death cause of the feminine population worldwide, becoming in one of the health problems that captures the attention of different branches of science. The cervical smear cytology has been used widely as a screening technique; however, there still exist some difficulties for the recognizing of the morphologic changes in an infection produced by HPV which is actually considered as one of the etiological factors in this entity.

For that reason, the Biomedical Engineering Research Group (GIIB), under the consultanship of the pathology department of the Industrial University of Santander (UIS), has performed a series of studies by means of the digital image processing in which this project makes part; with all of that it is pretended to contribute with the human Papilloma-virus diagnosis in the cells through a software assisted tool.

The methodology of the unified process UML constitutes the base for the software development, through an identification of requirements, risks and authors and the construction of the uses cases and activities diagrams. For the characterization of the HPV presence in the cells, it was necessary the transformation of the colour space, to digital treatment techniques like thresholding and mathematic morphology, and artificial intelligence methods such as neural network and knowledge based systems. It is recommended to couple this prototype to other similar projects to obtain a robust tool.

* Grade Work

** Faculty of Engineering Physique-Mechanics. School of Systems Engineering and Informatics. Director: Alfonso Mendoza Castellanos. Co-directors: Ernesto García Ayala, Olga Mercedes Álvarez.

INTRODUCCIÓN

Con el pasar del tiempo, ha surgido la necesidad de diseñar herramientas que colaboren con la confirmación de procesos manuales y que permitan corroborar las anomalías que pueden presentarse para la distinción de diferentes problemas relacionados con la salud. Es así como se han implementado algoritmos que complementan las características establecidos para las enfermedades y que ayudan a diagnosticar con mayor precisión las diferentes patologías.

El cáncer de cuello uterino es el segundo tumor maligno más común en el mundo. Actualmente en Bucaramanga la tasa de prevalencia para éste cáncer es de 1.5 por cada 100 mujeres y solamente un 36% de la población que se encuentra entre los 25 y los 69 años de edad acude a los servicios de salud ofrecidos para la prevención del mismo. La infección por Virus de Papiloma Humano se considera como el primer factor de riesgo en el desarrollo de cáncer cervical, ya que su ADN se ha encontrado en el 99% de los casos, presentándose en tumores genitales tanto en hombres como mujeres, así como neoplasias en la cavidad oral, orofaringe y piel.

El porcentaje de muertes a causa del cáncer cervical ha decrecido en los últimos años entre el 60 y el 70% demostrado mediante estudios epidemiológicos realizados en todo el mundo, en gran parte porque muchas mujeres se han sometido a pruebas como la citología que, aunque no es infalible, ésta prueba revela el 95% de cánceres cervicales y, lo que es más importante, los detecta en un estado en el que todavía no se ven a simple vista. Por medio de ésta prueba de tamizaje se obtiene una muestra de células escamosas entre superficiales e intermedias donde se detecta el cambio de las mismas causado por la anomalía presente en la enfermedad.

La presencia del virus caracteriza las células infectadas haciendo visible cambios en su tamaño, multinucleación, forma y margen celular además de traslucidez en el citoplasma formando un halo perinuclear.

Éste trabajo de investigación busca dar soporte al proceso desarrollado por los patólogos en la identificación de las células escamosas de citologías cervicouterinas que presentan cambios asociados al virus de papiloma humano (VPH), por medio de la construcción de un prototipo software asistido que facilite la detección temprana del virus evitando la progresión de anomalías hacia un estado de cáncer en el útero.

La implementación del proyecto toma como referencia la metodología del proceso unificado de desarrollo de software para el tratamiento digital de imágenes con el fin de estandarizar los métodos y posibilitar el acople del prototipo con proyectos similares en búsqueda de una herramienta robusta.

1. PRESENTACIÓN DEL PROYECTO

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo general.

Caracterizar las células escamosas presentes en citologías cervicouterinas dentro de los parámetros de VPH propuestos por el Sistema de Clasificación Bethesda, mediante métodos basados en Inteligencia Artificial.

1.1.2 Objetivos específicos.

Establecer los criterios correspondientes a cada uno de los parámetros a evaluar en las células escamosas que presentan infección por Virus de Papiloma Humano (VPH) principalmente en células superficiales e intermedias.

Identificar las características de las células que presenten infección por VPH, en busca de una buena diferenciación respecto de otras patologías.

Desarrollar los algoritmos necesarios para la identificación de los parámetros de clasificación de células escamosas que presentan infección por VPH.

Construir un software que permita identificar infección por VPH en las células de acuerdo con los parámetros extraídos de una lámina de citología cervicouterina.

Utilizar métodos de Inteligencia Artificial para apoyar el proceso de reconocimiento de patrones en células que presentan infección por VPH.

1.2 JUSTIFICACIÓN

1.2.1 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 cervicouterina. 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%, correspondiendo de estos el 52% a NIC I. 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 cervicouterina. 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 cervicouterino 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 cervicouterinas 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 cervicouterinas.

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
7. Neoplasia Intraepitelial Cervical II - NIC II
8. Neoplasia Intraepitelial Cervical III - NIC III

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.

9. Carcinoma Invasor.
10. Células endometriales en mujer > 40 años.
11. Células escamosas atípicas de Significado Incierto - Ascus.

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 que no se puede excluir lesión intraepitelial de alto grado -Asch
2. Células endocervicales.
3. Adenocarcinoma In Situ.
4. Adenocarcinoma Invasor

1.2.2 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.

1.2.3 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 CONCEPTUAL

2.1 VIRUS DE PAPILOMA HUMANO (VPH)

2.1.1 Epidemiología

El cáncer de cérvix uterino es el segundo tumor maligno más común en el mundo, pero su incidencia es menor en países desarrollados predominantemente gracias a la introducción de extendidos cervicales. La trascendencia de este tipo de cáncer radica en la asociación entre los tipos virales que afectan el cuello del útero con otros tumores genitales en hombres y mujeres así como neoplasias en la cavidad oral, orofaringe y piel.

La infección por Virus de Papiloma Humano se considera como el primer factor de riesgo en el desarrollo de cáncer cervical, ya que su ADN se ha encontrado en el 99% de los casos.⁴ Una vez se adquiere puede desaparecer clínicamente (teniendo en cuenta que por su carácter viral no es curado en forma definitiva) en un periodo de tiempo de un mes a un año, lo que ocurre en un 90% de los casos. Por otra parte bajo ciertas condiciones solo una pequeña fracción puede persistir, de las cuales aproximadamente la mitad desarrolla lesión intraepitelial de alto grado y solo una tercera parte de estas puede progresar a cáncer. (Figura.1).

La prevalencia de la infección es más alta para mujeres mayores de 25 años de edad y persiste con mayor frecuencia en un rango de edad entre 35 y 64 años⁵.

⁴ SOCIEDAD ESPAÑOLA DE GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA, Sociedad Española de Citología y Asociación Española de Patología cervical y Colposcopia. La Infección por papilomavirus.2002

⁵ MARINO, Marmolejo Erika Nahomy. Expresión de Receptores Notch y Detección de Virus de Papiloma Humano en Cáncer Cervicouterino: Tesis de Maestría en ciencia en Biología Molecular. Instituto potosino de Investigación y Tecnología: México.2005.

Agentes que favorecen la progresión del virus incluyen factores reproductivos, inmunidad celular, factores nutricionales, estatus socioeconómico, infecciones de transmisión sexual, costumbres socioculturales y religiosas e higiene personal.⁶

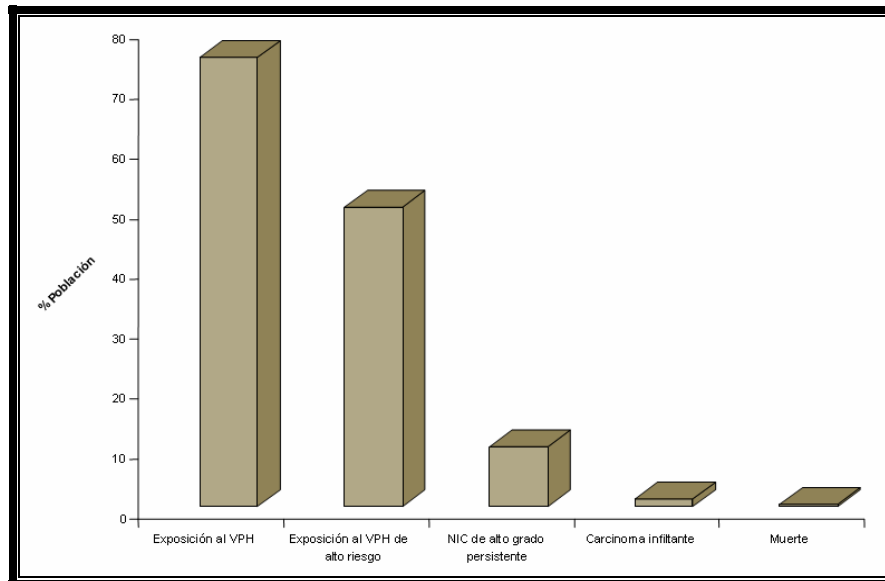


Figura 1. Papel del VPH en la carcinogénesis del cuello uterino y sus repercusiones en la población mundial.

El mayor riesgo de infección por VPH se relaciona con el inicio temprano de contacto sexual (antes de los 20 años de edad), siendo alto para mujeres sexualmente activas y muy bajo para aquellas sin contacto sexual; otros de los factores que se consideran de riesgo son elevado número de compañeros sexuales a lo largo de la vida, cambio reciente de compañero sexual, contacto sexual con hombre de alto riesgo (con historia sexual promiscua o frecuentes contactos con mujeres que ejercen la prostitución, población con frecuencia de

⁶ ASAGIO, Premio Beca 2004. Relaciones causales entre el virus de papiloma humano y el cáncer de cérvix.

infección 14 veces mayor que en la población general), múltiples partos (debido a los diferentes cambios hormonales durante el embarazo), primer embarazo (ya que puede presentarse el virus debido a la inmadurez de las células durante el trauma obstétrico).⁷ (Tabla 1).

FACTORES DE RIESGO	INFECCIÓN POR VPH	PERSISTENCIA Y TRANSFORM. DEL VPH
Múltiples compañeros sexuales	+	n.e
Compañeros con múltiples compañeras sexuales.	+	n.e
Higiene deficiente.	+	n.e
Ausencia de circuncisión en el hombre.	+	+
Inmunodeficiencia VIH	+	+
Alta paridad.	n.e	+
Anticonceptivos orales.	n.e	+
Hábito de fumar.	n.e	+
Chlamydia Trachomatis	n.e	+
Bajo estatus nutricional	n.e	+

Tabla 1. Factores de riesgo de cáncer cervical: Infección por VPH vs. Persistencia y Transformación Maligna.⁸ (*n.e = no hay evidencia que sea un factor de riesgo)

⁷ COTRAN, Ramzi; KUMAR, Vinay y COLLINS, Tucker. Patología Estructural y Funcional. 6 Ed. McGrawHill, p. 1078

⁸ WELL, M. *et al* Pathology and Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs. Chapter 5, Tumours of the Uterine Cervix. Lyon, 2003. p. 263.

Existen también factores de progresión medioambientales tales como el hábito de fumar, en donde las mujeres con esta conducta presentan mayor posibilidad de padecer cáncer de cérvix que las no fumadoras, principalmente por que en la mucosa del cuello uterino se aloja una elevada concentración de nicotina y cotinina que duplica el riesgo de progresión neoplásica; el uso prolongado de anticonceptivos orales por más de 5 años se vincula con la permanencia de infecciones por VPH y duplica el riesgo de contraer cáncer cervicouterino; infecciones por Chlamydia Trachomatis y HSV-2, probablemente debido a la cervicitis crónica; sistema inmunológico deprimido causado por algunos factores genéticos, medicamentos, consumo de drogas o enfermedades como el SIDA, induciendo al desarrollo de cáncer anogenital y del cuello uterino ante la presencia de la infección por virus de papiloma humano; la ausencia de circuncisión en el hombre y una higiene genital deficiente son factores que se asume están ligados a la infección pero no se ha comprobado su relación con ésta.⁹

2.1.2 Etiología y Patogénia

La infección por VPH es un agente etiológico transmitido sexualmente, considerado como el principal responsable de la progresión del virus evidenciado por la presencia de ADN de VPH en la mayoría de las biopsias de cáncer cervical. Estos virus tienen preferencia por el epitelio inmaduro del cérvix concentrándose en células metaplásicas basales y parabasales. (Figura 2).

Los papilomavirus Humanos pertenecen al género de los Papilomavirus, el cual junto al polioma y virus vacuolizantes SV40 constituyen la familia Papaviridae, se caracterizan por ser pequeños virus de ADN, icosaédricos y sin cubierta.

⁹ SOCIEDAD ESPAÑOLA DE GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA, Op cit. p 19

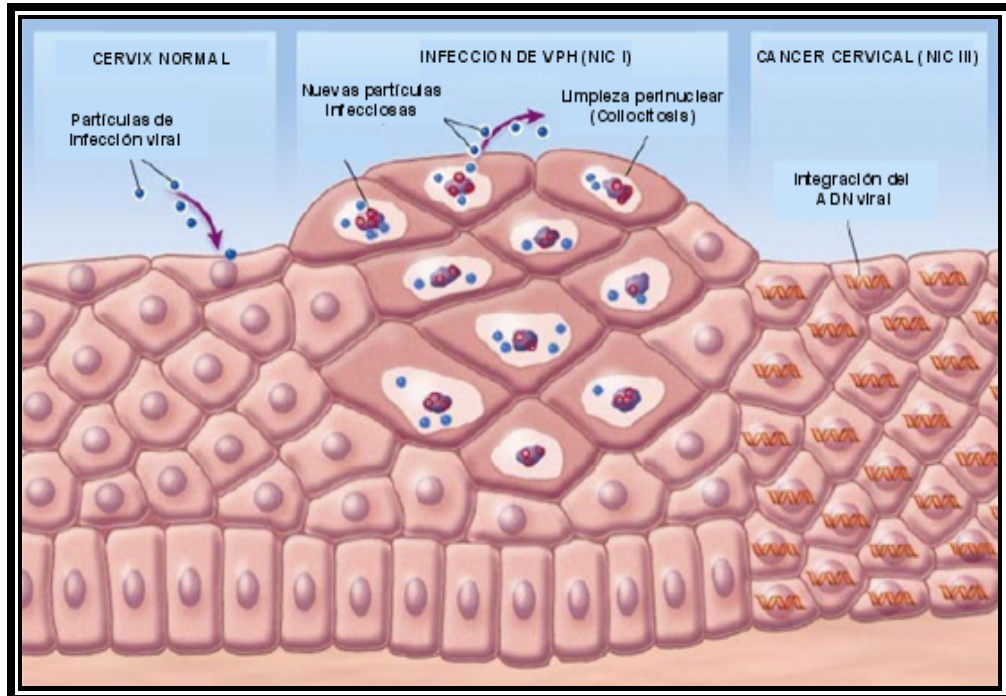


Figura 2. Relación entrada – progresión de la infección por VPH; integración del genoma viral con los grados de neoplasia intraepitelial.¹⁰

Los papilomavirus no se clasifican por serotipos sino que atendiendo a las características de su ADN se clasifican según genotipos. Su genoma es una molécula circular de doble cadena, constituida por aproximadamente 7200 a 8000 pares de bases,¹¹ cuyo virion mide de 45 a 55 nm, incluida dentro de una cubierta proteínica, esférica o cápside gruesa de 2 nm de espesor.

El genoma viral se divide en tres regiones, una región temprana que codifica los genes necesarios para la transcripción y replicación viral y la transformación celular, ésta región (Early E) se transcribe antes y durante la síntesis del ADN

¹⁰ MARINO, Op cit., p. 18

¹¹ ASAGIO, Op.cit. p.22

viral, (Figura 3); una región tardía (Late L) que codifica las proteínas de la cápside viral; y una región de control (long control region LCR) que es la región encargada de controlar la reproducción y la síntesis de proteínas de las regiones temprana y tardía.

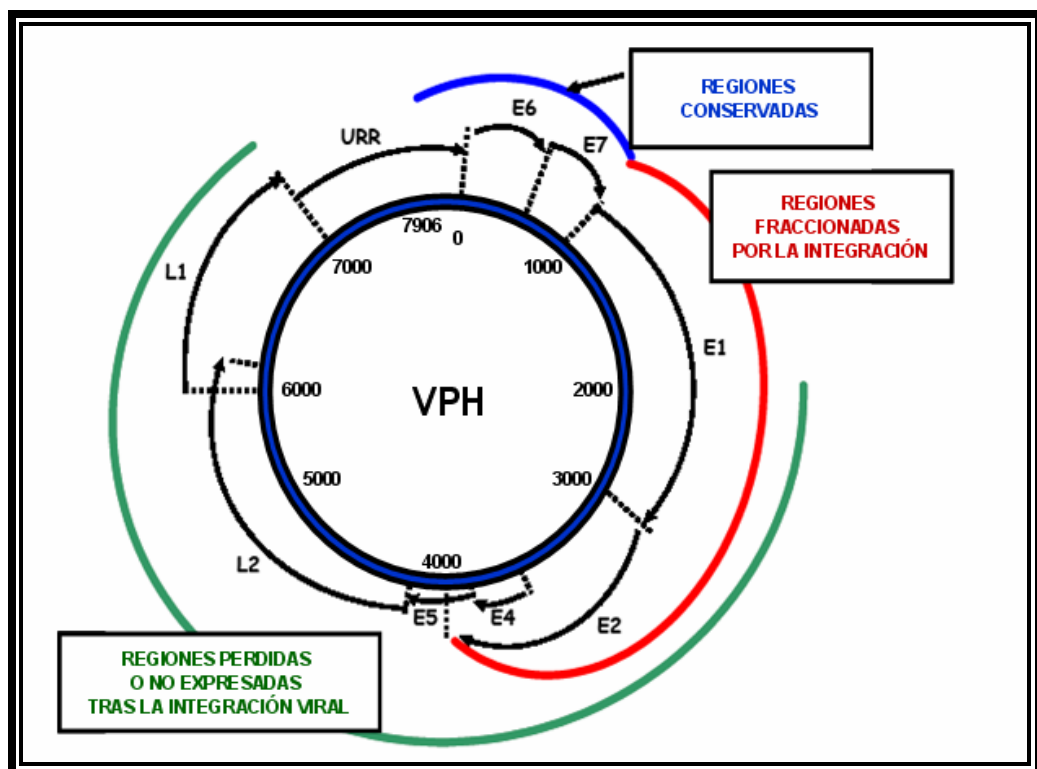


Figura 3. Esquema de la organización del genoma del VPH¹²

La región E, contiene seis regiones codificantes (E1, E2, E4, E5, E6, E7) de las cuales E6 y E7 generan proteínas con alto poder oncogénico que se traduce en poder transformante y de inmortalización celular. El resto de segmentos sintetizan proteínas propias de la estructura y función del virus, E1 codifica dos proteínas

¹² SANCHEZ, Miguel. Servicio de Anatomía Patológica Laboratorio de Patología Molecular Hospital Universitario Materno Infantil de Gran Canaria. Biocáncer 1, 2004 p. 10

requeridas para la replicación extracromosómica del ADN viral y para completar su ciclo vital. En E2 se codifican dos proteínas que en cooperación con E1 son necesarias para la replicación extracromosómica, E4 es importante para la maduración y replicación viral, en queratinocitos humanos produce un colapso y acumulamiento de queratinas citoplasmáticas posible causa del halo perinuclear de los coilocitos. E5 interacciona con receptores de membrana estimulando la proliferación de células infectadas por VPH.¹³ (Tabla 2).

PROTEÍNA VIRAL	FUNCIÓN BIOLÓGICA
E1	Inicia replicación del ADN viral, mantiene el número de copias de ADN episódico y regula la transcripción y transformación viral.
E2	Regulador mayor de la transcripción viral activa: reprime la transcripción viral.
E4	Facilita la liberación de viriones.
E5	Oncoproteína de transformación menor.
E6	Oncoproteína de transformación mayor. Induce degradación de p53. Altera el avance del ciclo celular y la estabilidad genómica.
E7	Oncoproteína de transformación mayor. Absorbe pRb y libera E2F
L1	Cápside mayor. Estabilidad de la cápside.
L2	Cápside menor. Facilita el empaquetamiento de ADN.

Tabla 2. Productos del Gen viral y Funciones Relacionadas¹⁴

¹³ Ibid., p. 10-11

¹⁴ ASAGIO, Op cit, P.23

Las regiones codificantes L1 y L2 hacen parte de la región tardía. La mayor L1, constituye el 80% de la proteína total, es esencial para la formación y estabilidad de la cápside, facilitando la unión inicial a la superficie de la célula huésped y la entrada de ADN viral al núcleo. Tiene la capacidad de generar anticuerpos que pueden ser detectados en pacientes infectadas. La menor L2, se encuentra en pequeñas cantidades y se requiere para el empaquetamiento eficiente del ADN en viriones.

Las células epiteliales, son el escenario preferido para el desarrollo de los papilomavirus al hacerse efectiva la infección, éstas células sintetizan las proteínas que permiten la propagación de nuevas partículas del virus. Cuando se presenta la infección, las células epiteliales activan su mecanismo de defensa haciendo una revisión mediante un ciclo celular de su secuencia de ADN, que es dirigido por diferentes proteínas entre las que se destacan la p53 y la proteína Rb.

Dado que las moléculas de ADN de las células son grandes, al localizar una molécula de ADN viral, se intenta reparar el error presente, pero debido a su tamaño es imposible eliminarlo, haciendo que las proteínas p53 y Rb interactúen con la célula infectada, enviando ésta a una modalidad específica de muerte celular controlando el desarrollo y crecimiento de la célula, evitando que sirva como propagadora de dicha infección.

Los genes E6 y E7 están presentes en algunos tipos de VHP, los cuales producen proteínas del mismo nombre (E6 y E7), que actúan como agentes bloqueadores de p53 y Rb y se protegen de la muerte celular de manera que puedan seguir siendo centro de producción de partículas virales. Debido a la imposibilidad de la eliminación de las partículas de ADN virales y del arreglo de los errores del ADN celular, se van acumulando todas las alteraciones genéticas comprometiendo así la funcionalidad de éstas, convirtiéndola en una célula en progresiva decadencia.

Los Virus de Papiloma Humano se clasifican según las especies que infectan y el grado de relación genética con la misma. Con base en el sitio de infección suelen agruparse en tipos cutáneos y mucosos, o según la fuerza de su asociación con el cáncer, en oncogénicos y no oncogénicos de los cuales existen indicios de más de 100 genotipos diferentes, de esta forma, tipos de bajo riesgo, llamados así por su limitada capacidad de provocar cáncer, como 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 72 y 81 se asocian a condilomas y a lesiones intraepiteliales de bajo grado (NIC I), predominando los tipos 6 y 11 en aproximadamente 20 a 22% de los casos¹⁵. Tipos de alto riesgo como 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68 se presentan en lesiones intraepiteliales de alto grado incluido el carcinoma In-Situ y carcinoma infiltrante (Tabla 3), y están contenidos en el 95% de los carcinomas escamosos, se destacan en éste tipo las cepas VPH 16 y 18 que sin duda, son relacionadas con mayor frecuencia con el cáncer de cuello uterino. (Figura 4)

TIPOS DE VPH	LESIONES ASOCIADAS
1, 2, 3, 4, 10, 28	Verrugas comunes.
6, 11, 31, 42, 45	Condilomas anogenitales, lesiones de bajo riesgo (NIC I).
16, 18, 31, 33, 35, 39	Lesiones de alto riesgo (NIC II y III), lesiones anogenitales, laríngeas, esofágicas y posible cáncer pulmonar.
26, 27	Verrugas, inmunodeficiencia, trasplante renal.

Tabla 3. Lesiones comunes de Virus de Papiloma Humano¹⁶

¹⁵ Ibid., p. 24

¹⁶ BIBBO, Marluce. Comprehensive Cytopathology. 2 ed. Philadelphia: Saunders, 2000, p. 143

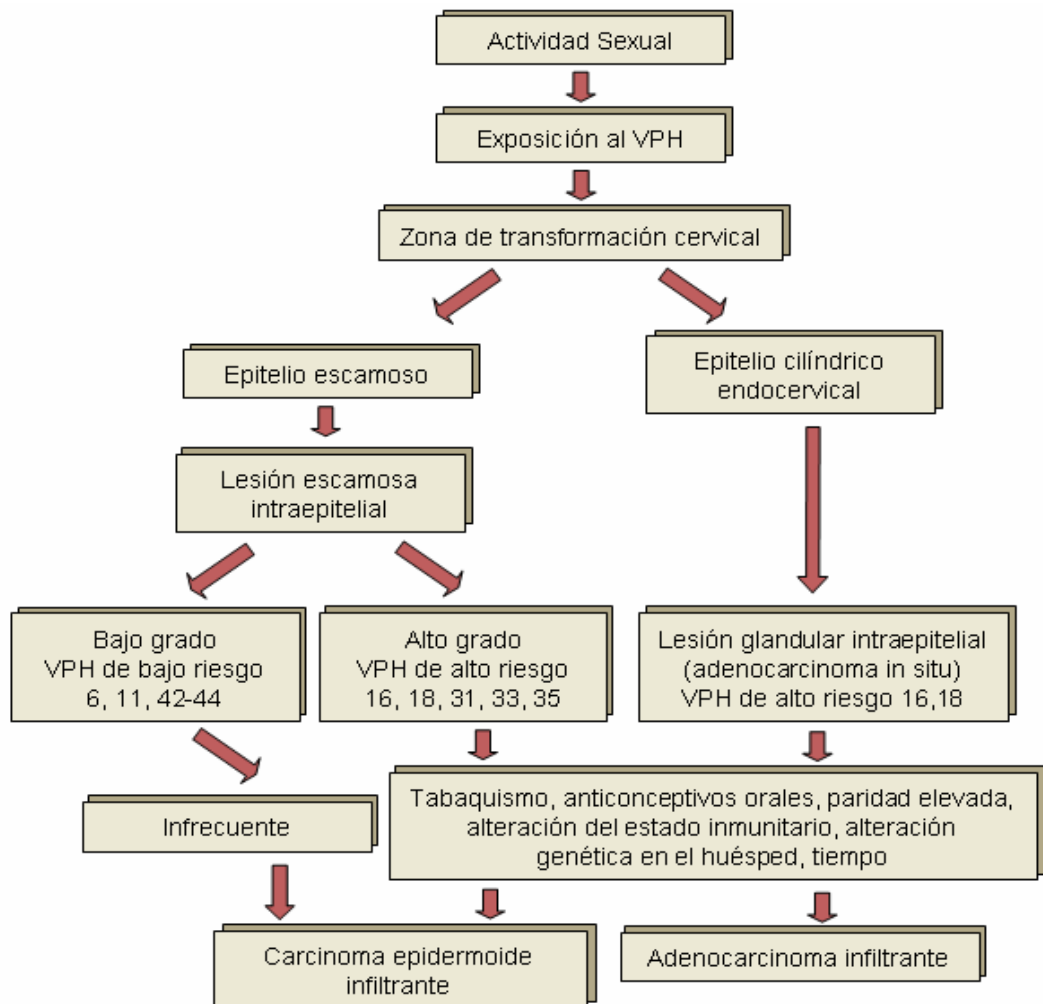


Figura 4. Pasos en la patogenia de la neoplasia cervical¹⁷

La infección de VPH se puede expresar en forma clínica, subclínica o latente. Las manifestaciones clínicas habituales de la infección son los condilomas acuminados, verrugas genitales, papilomas venéreos o verrugas venéreas, mostrando acantosis, elongaciones de papilas dérmicas, presencia de células vacuoladas con núcleos densos y arrugados y con cuerpos de inclusión basofílicos

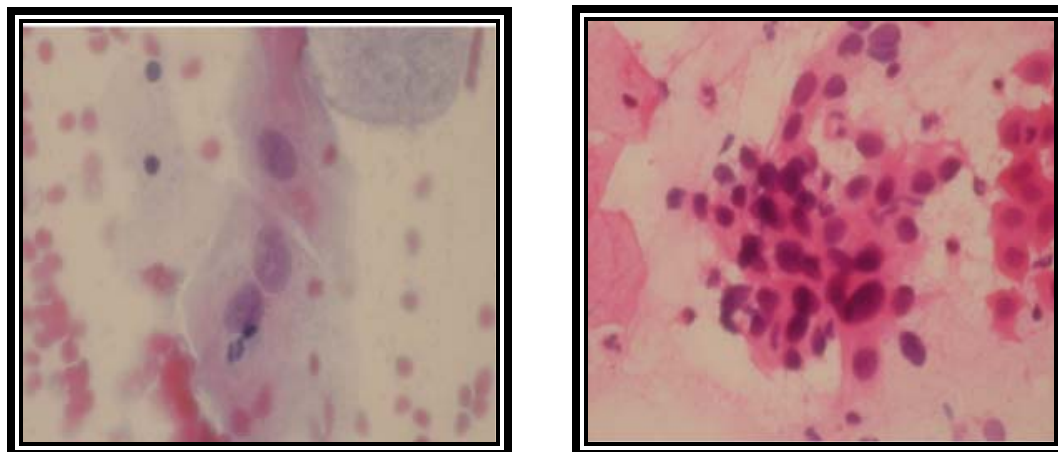
¹⁷ COTRAN, Op cit, p 1078

en las capas superficiales del epitelio escamoso estratificado; por otra parte en la infección subclínica las lesiones solo se hacen evidente por medio de colposcopia lo que facilita el contagio. La infección latente solo es posible de detectar por métodos de determinación de ADN y puede ser activada en presencia de estados de inmunodeficiencia, evolucionando a los estados clínico y subclínico en un periodo de tiempo y condiciones no determinadas.¹⁸

Los condilomas acuminados son una de las lesiones clínicas más frecuentes en mujeres infectadas por el Virus del Papiloma. Se aprecian con poca frecuencia en el cuello uterino, aparecen en la mucosa o piel donde se ha producido el contagio, se localizan inicialmente en las zonas de mayor fricción durante el coito pero condiciones de humedad e infecciones asociadas favorecen la propagación al resto de la vulva, periné y área perianal. Suelen ser exofíticos, múltiples, de color rosado o blanco-grisáceo, de tamaño variable, con crecimiento rápido hasta llegar a adquirir dimensiones considerables y el típico “aspecto de coliflor”, en ocasiones el tamaño de la lesión se estabiliza o decrece hasta desaparecer por completo; el período de incubación es variable, y a menudo es difícil determinar la fuente de infección.

La manifestación subclínica de las lesiones se hace evidente en las lesiones escamosas intraepiteliales de cuello uterino (SIL), adenocarcinoma In Situ (AIS) y neoplasia vulvar intraepitelial (VIN) (Figura 5). Las SIL, anteriormente nombradas se agrupan en dos categorías de lesiones premalignas; las de bajo grado (LSIL) correspondientes a NIC I e infecciones víricas tales como alteraciones celulares producidas por papilomavirus, y las HSIL (NIC II y NIC III), de alto grado que corresponde a cambios premalignos.

¹⁸ SOCIEDAD ESPAÑOLA DE GINECOLOGIA, Op cit, p 21-22



(a)

(b)

Figura 5. Manifestación subclínica del VPH. (a) Lesión escamosa intraepitelial de bajo grado, (b) Lesión intraepitelial escamosa de alto grado

La clasificación anterior es la usada en el “Sistema Bethesda para informar la citología cervical”, ya que es un sistema universalmente conocido y ampliamente utilizado en muchos países entre los que se encuentra Colombia. (Tabla 4).

EN CELULAS ESCAMOSAS	Células escamosas atípicas (ASC)	De significado indeterminado ASCUS No puede excluirse H-SIL ASC-H
	Lesión intraepitelial escamosa de bajo grado	Displasia leve/CIN I VPH
	Lesión Intraepitelial escamosa de alto grado (H-SIL)	Displasia moderada, severa y CIS/ CIN II y III. Con características sugestivas de invasión (si se sospecha invasión)
	Carcinoma escamoso	
EN CELULAS GLANDULARES	Células glandulares atípicas (AGC)	Endocervicales Endometriales

		Glandulares
	Células atípicas, sugestivas de Neoplasia	Endocervicales Glandulares
	Adenocarcinoma endocervical in situ (AIS)	
	Adenocarcinoma	Endocervical Endometrial Extrauterino No específico (NOS)
OTRAS NEOPLASIAS MALIGNAS		

Tabla 4. Anomalías celulares epiteliales.¹⁹

2.1.3 Morfología

El cuello uterino también llamado cérvix está ubicado en la parte inferior del útero (la matriz) ocupando aproximadamente la tercera parte de éste, de forma cilíndrica o cónica, mide de 3 a 4 cm. de largo y 2.5 cm. a 3.5 cm. de diámetro. Las dimensiones y la forma del cuello uterino varían según la edad, el número de partos y el momento del ciclo hormonal de la mujer; la parte superior, o cuerpo del útero está conectado con la vagina por medio del cérvix. La parte del cérvix más cercana al cuerpo del útero se llama endocérvix y la parte próxima a la vagina es conocida como ectocérvix. (Figura 6).

¹⁹ LACRUZ, Pelea Cesar. Nomenclatura de las lesiones cervicales (de Papanicolau a Bethesda 2001). Revista Española de Patología Vol.36, Madrid 2003, p. 7.

El cuello uterino está recubierto por el epitelio escamoso estratificado que recubre gran parte del ectocérvix y por el epitelio cilíndrico mucoprodutor que cubre el conducto endocervical. Estos dos tipos de epitelio confluyen en la unión escamoso-cilíndrica o zona de transformación, lugar donde se inician las lesiones intraepiteliales escamosas.²⁰

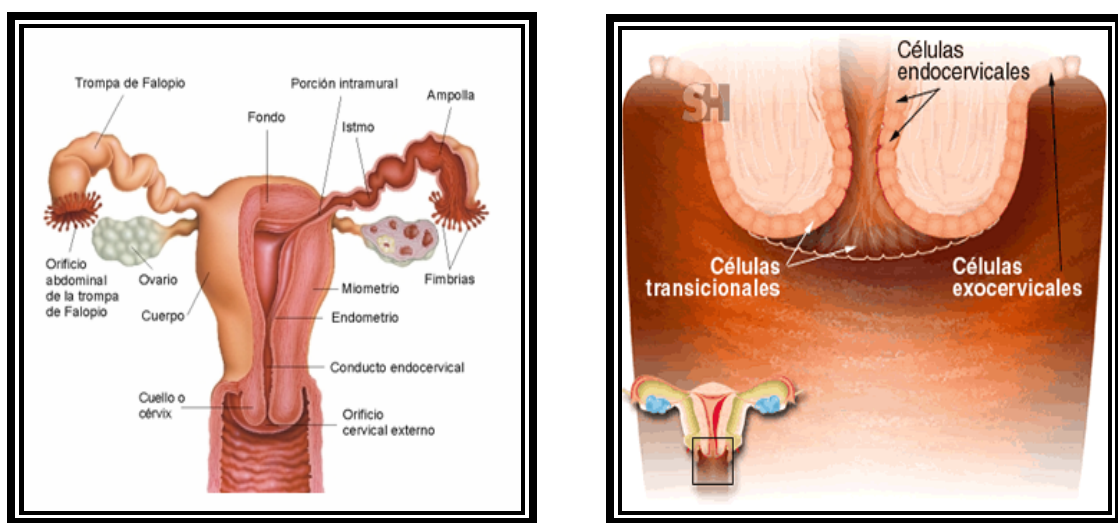


Figura 6. Representación del cuello uterino

El epitelio escamoso agrupa cuatro capas de células: la capa basal que forma una fila de células inmaduras con grandes núcleos y escaso citoplasma, la capa parabasal abarca de 2 a 4 filas de células inmaduras, ovaladas y con núcleo voluminoso, a medida que estas células progresan a la superficie alcanzan un mayor tamaño y madurez; la capa intermedia ocupa 4 a 6 filas de células, con cantidades grandes de citoplasma y forma poliédrica, separadas por un espacio intercelular, de núcleo pequeño y citoplasma claro a veces vacuolado, y la capa

²⁰ LATARJER, M. y RUIZ, Liard A. Anatomía Humana. Argentina: Medica Panamericana, 1983 p 1784 - 1787

superficial incluye 5 a 8 filas de células grandes poligonales planas con núcleos pequeños y picnoticos y citoplasmas llenos de glucógeno. (Figura 7).

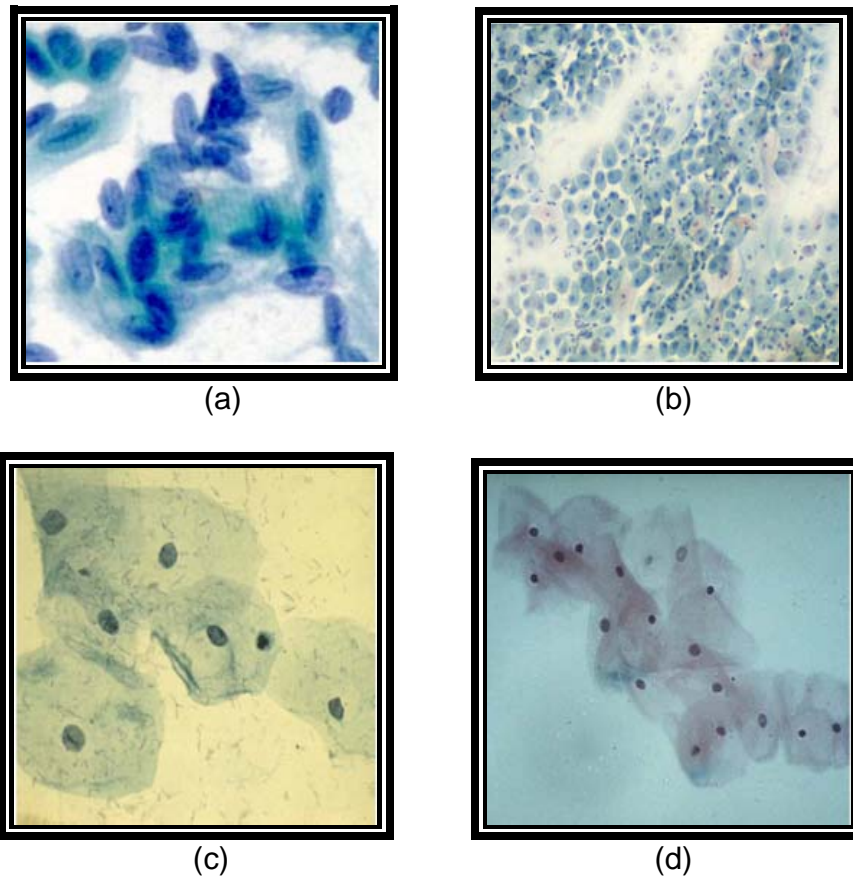


Figura 7. Representación del epitelio escamoso. a) Células basales, b) Células parabasales, c) Células intermedias y d) Células superficiales.

El cáncer del cuello uterino (se origina en la membrana que recubre el cérvix a partir de cambios precancerosos en las células cervicales normales. Los dos tipos principales de cáncer de cuello uterino existentes son: el carcinoma de células escamosas, (entre el 80 y 90% de los casos) compuestos por células que se asemejan a las células planas y delgadas, y el adenocarcinoma, generado por las células de las glándulas productoras de mucosidad del endocérvix.

El virus de papiloma humano es normalmente encontrado en células escamosas superficiales, intermedias y en algunas ocasiones en metaplásicas evidenciado por la presencia de coilocitos, mientras que en células basales y parabasales resulta difícil su apreciación.

Las formas angulares de las células infectadas con VPH tienden a asumir una forma suave, ovoide o redondeada. El citoplasma muestra una condensación periférica produciendo efecto de “bucle de alambre” en el cual, el gel de citoproteínas deja en los bordes una envoltura vacía de apariencia opaca o cerosa, puede ser acidofílica y tornarse naranjofila.

Los coilocitos encontrados en el extendido citológico tienen una cavidad grande o halo intracitoplásmico, llamado también halo perinuclear con bordes periféricos agudos, es decir de contorno irregular, de apariencia nítida y que ocupa las dos terceras partes del citoplasma, contiene en su interior material fagocitado, citoqueratinas de gran peso molecular, un núcleo localizado excéntricamente que lo diferencia de la infección por tricomonas y candida, donde el halo es regular estrecho²¹. (Figura 8).

En el diagnóstico de VPH, el coilocito es un excelente indicador de la infección, mostrando un alto grado de especificidad demostrado en casos de condiloma en los cuales es cercano al 90%. Pese a esto, la sensibilidad para la detección de VPH es baja, entre 20 y 60%, debido a la excesiva confianza que se tiene a la presencia de coilocito como principal rasgo asociado al diagnóstico para categorizar la anormalidad de la célula escamosa

²¹ BIBBO, Op cit, 145

Se considera que la infección se origina en la región de transformación, que es el área más vulnerable de la interfaz endocervical-ectocervical y que puede moverse aproximándose o distanciándose afectando las células adyacentes epiteliales.²²

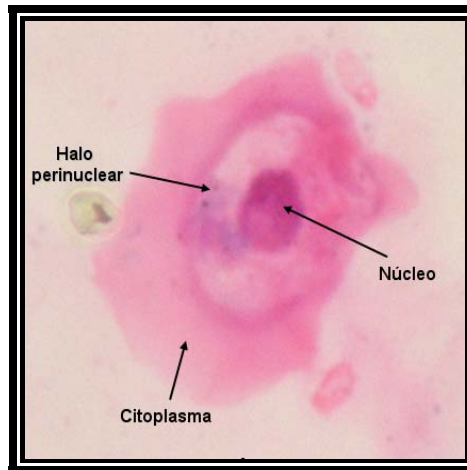


Figura 8. Representación de un coilocito, principal indicador del VPH

Una indicación que a menudo acompaña la infección viral del VPH es la presencia de disqueratocitos, caracterizando una célula escamosa miniatura que puede estar suelta o añadida en varias capas, presentando citoplasma escamoso y denso y con un núcleo pequeño e intensamente hiper cromático fino y de contornos irregulares.

La paraqueratosis es también un rasgo asociado con infecciones de VPH cobrando importancia en casos que no presentan inflamaciones. Pueden revelar queratinización anormal o disqueratosis; mientras que en la hiperqueratosis donde se presentan células escamosas anucleadas, no se asegura la infección, pero se sugiere nuevamente estudio de la célula.²³

²² Ibid., p 146

²³ Ibid., p 146.

Aunque los cambios nucleares no son específicos debido a que en muchos casos no existen; los núcleos se pueden degenerar y aparecer hipercromáticos, picnoticos, revelar marginación de cromatina y claridad anormal; bi o multinucleación, mayores tamaños, con gránulos de cromatina distribuidos uniformemente, sin inclusiones nucleares ni nucleolos, la membrana nuclear puede ser débil y ondulada, aparecer degenerada, doblada y algo arrugada, tomando el aspecto típico de una uva pasa. (Tabla 5).

CÉLULAS AFECTADAS	Escamosas maduras, queratinizadas, Escamosas inmaduras, queratinizadas, Zona de transformación no diferenciada.
CONFIGURACIONES CELULARES	Grupos. Solos. Fragmentos de Tejido.
FORMA CELULAR	Pérdida de la forma poligonal, esquinas agudas o redondas.
MARGEN CELULAR	Espeso, apariencia de bucle de alambre.
TAMAÑO DE LA CÉLULA	Cambio del tamaño normal de la célula
CITOPLASMA	Translucidez variable y condensación. Coilocitosis.
NÚCLEOS	Cariomegalia. Bi y Multinucleación. Disqueratosis mínima.
CAMBIOS ASOCIADOS	Paraqueratosis. Hiperqueratosis.

Tabla 5. Rasgos citomorfológicos de la infección por VPH²⁴

²⁴ Ibid., p 147

2.1.4 Detección

Teniendo en cuenta el carácter preventivo del cáncer de cérvix con la detección temprana del VPH se pueden tener en cuenta dos etapas:

Una prevención primaria, encargada de buscar la minimización de los riesgos de cáncer cervical promocionando comportamientos adecuados y estilos de vida saludable dentro de la población. Factores implementados a corto plazo como el desarrollo de campañas educativas, métodos para mejorar la asistencia a programas de tamizaje e información completa de los riesgos y beneficios de éste en el cáncer, ayudan a aumentar el uso de formas y elementos para la planificación, la detección temprana de la enfermedad y por lo tanto reducir la transmisión del VPH y del cáncer de cérvix.

Desde el punto de vista personal, factores como mantener una sola pareja que no tenga contacto sexual con otros, y el no tener relaciones sexuales con personas que tengan verrugas genitales, reducen el riesgo de la infección. El uso de preservativos, geles y cremas, aunque ayudan a prevenir otras enfermedades de transmisión sexual, no ofrecen una protección 100% contra el virus del VPH.

La prevención secundaria se relaciona con las técnicas de detección temprana con el objetivo de encontrar anomalías y detener la expansión del virus evitando su progresión. Algunas de ellas son:

2.1.4.1 Citología cervicouterina: llamada anteriormente prueba de Papanicolaou, es una prueba para detectar alteraciones incipientes del cuello uterino; no es diagnóstica sino sugestiva e identifica a mujeres sospechosas de tener cáncer cervical y a las que muy seguramente están libres de él, e indica qué mujeres deben acceder a servicios especializados. Es muy específica aunque poco

sensible por presentar una tasa de falsos negativos alta por errores en la toma de la muestra y en la preparación de la lámina, no obstante tiene la ventaja de repetirse fácilmente.

Ésta prueba es aplicada a una población entre 25 y 69 años o a mujeres menores de 25 años con vida sexual activa, bajo la supervisión de un equipo de salud capacitado que garantice la atención humanizada para toda mujer que acceda a estos servicios.

La toma de citología debe realizarse en el esquema 1-1-3, esto significa que, si el resultado de la primera citología es normal se realiza una segunda citología al año para eliminar los posibles falsos negativos, si ésta segunda citología es normal, se debe citar a la mujer para otra citología en tres años y mantener esa periodicidad en tanto el resultado de la citología sea negativo. Cuando la última citología ha sido tomada hace más de tres años, se debe reiniciar el esquema 1-1-3.²⁵ En Colombia no es aplicado éste tipo de esquema, se prefiere hacer la toma de la citología anualmente independiente del resultado.

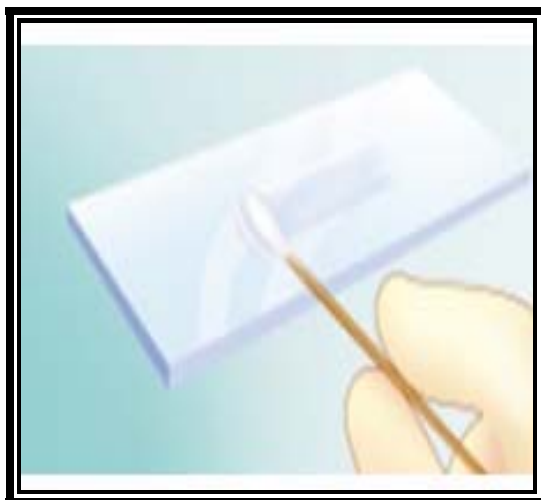
Para obtener buenos resultados con la citología es requisito fundamental que la toma sea correcta obteniendo la cantidad suficiente de material directamente del ectocérvix y del endocérvix. Por otra parte cuando solo puede leerse el 50% de la muestra debido a una mala fijación, muestra muy gruesa, reacción inflamatoria severa, muestra hemorrágica, mala preservación celular o por ausencia de células endocervicales se denomina satisfactoria limitada. De una toma inadecuada, sólo podrá leerse el 25% del total del extendido, pese a esto se deben reportar los

²⁵ Norma técnica para la detección temprana del cáncer de cuello uterino y guía de atención de lesiones preneoplásicas de cuello uterino. Resolución numero 00412 DE 2000 Actualización 23 de Junio de 2006 <http://medicosgeneralescolombianos.com/Ca_Cuello_Uterino.htm>

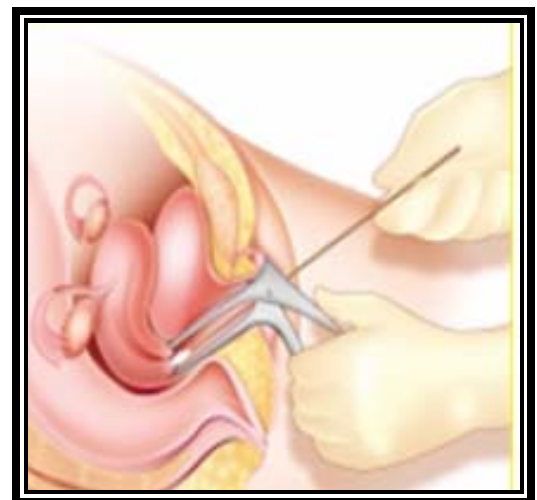
resultados resaltando que deben repetirse, previo tratamiento de los hallazgos que así lo requieran.

Siendo una técnica sencilla, la citología cervical requiere ciertos pasos desde que se practica la toma hasta que se recibe el informe. Tales son

- Diligenciamiento del registro para citología.
- Preparación de Láminas (Figura 9a).
- Toma de la muestra utilizando espátula de madera o plástico para el ectocérvix y cepillo para el endocérvix. (Se debe tener en cuenta girar la espátula en sentido de las manecillas del reloj 360°, si la espátula no raspa toda la zona de transformación, se debe girar nuevamente las veces suficientes para cubrir dicha zona), (Figura 9b).
- Análisis de la muestra.
- Entrega de resultados.



(a)



(b)

Figura 9. (a) Lámina de muestra de la citología. (b) Esquema toma de citología

Aspectos que contribuyen a que el proceso anterior sea óptimo son los siguientes:

- No hacer tacto vaginal antes de la toma de la muestra.
- Usar espéculos sin lubricante.
- Exponer muy bien el cérvix.
- Limpiar el exceso de flujo con torunda de algodón.
- Extender la muestra en forma adecuada para que quede delgada.
- Fijar la muestra utilizando cito-spray (a una distancia de 23 a 30 cm de la laminilla), fijador comercial o alcohol al 95%.
- Identificar adecuadamente la lámina.
- Informar a la usuaria sobre la importancia de reclamar oportunamente el resultado.²⁶

La lectura de la citología debe ser realizada por un citotecnólogo experto y formado para tal fin. Los casos positivos para lesiones malignas o sus precursoras deben pasar al concepto del citopatólogo.

Con el objeto de adoptar una terminología uniforme, que pueda ser relacionada con la clasificación histopatológica es usado el Sistema Bethesda, que ofrece al médico tratante información descriptiva que orienta la toma de decisiones para el manejo adecuado de las mujeres que acceden a los servicios de tamizaje.

2.1.4.2 Citología en medio líquido: es una técnica que permite la homogeneización de la muestra para posterior extensión en monocapa celular, limpia de grumos y residuos, mejorando así la lectura microscópica. A su vez,

²⁶ MELO, Ala Angélica. *Et al.* Estudio comparativo de detección del virus papiloma humano (VPH) en muestras citológicas y biopsias de cuello uterino. Revista médica de Chile. ISSN 0034-9887 versión impresa

ofrece la opción de detectar VPH sin necesidad de un nuevo proceso de muestreo; cabe destacar que la optimización del proceso citológico mejora la interpretación, pero no influye sobre la adecuación técnica y topográfica de la toma de la muestra.

La importancia de esta prueba radica en la reducción de los falso-negativos, el número de muestras insatisfactorias y el tiempo necesario para examinar una muestra por parte de los citotecnólogos, e indirectamente, podría disminuir la incidencia de cáncer invasivo.²⁷

La citología líquida o en capa fina ofrece las siguientes ventajas:

- Muestras más representativas en todas las clases de células.
- Mejor conservación de la muestra.
- Más casos de lesiones precursoras detectados.
- Disminución de casos imprecisos ASCUS – AGC.
- Utilización del material restante para análisis de ADN.

Las desventajas se citan a continuación:

- Tiempos de procesamientos más largos.
- Formación especializada para la interpretación de los extendidos.
- Necesidades de un periodo, variable de adaptación para la lectura.
- Necesidad de mayor concentración en la lectura: mayor cansancio.
- Sensible aumento del costo, en todas las fases del proceso.

2.1.4.3 Colposcopia: La colposcopia ha contribuido enormemente al conocimiento de aspectos fundamentales de la carcinogénesis y de las lesiones precancerosas de la porción visible del tracto genital. Constituye una técnica de exploración que forma parte del examen ginecológico rutinario ya que es indispensable para evaluar la extensión de la región y para guiar la biopsia, sin embargo, la colposcopia aún no permite distinguir con seguridad entre las lesiones que contienen el VPH 6/11 y las que contienen el VPH 16/18 u otros de alto riesgo oncogénico.

No puede considerarse una prueba de cribaje debido a su baja especificidad y a su relativa laboriosidad, pero su sensibilidad en la detección de lesiones premalignas supera a la de la citología.

La utilidad clínica de este tipo de examen es entre otros valorar el tipo de lesión, localización y extensión, permitir el estudio histológico con procedimientos menos invasivos que la conización (pequeña biopsia dirigida, biopsia amplia que incluya toda la lesión o legrado endocervical), seleccionar y monitorizar los casos candidatos a tratamiento conservador y posibilitar el correcto seguimiento de los casos tratados.

El estudio colposcópico permite la identificación de características sutiles de los epitelios inapreciables a simple vista que son la expresión de cambios patológicos, motivo por el cual se debe hacer uso de ella en los siguientes casos:

- Diagnóstico anormal de la citología.
- Mujeres con VPH positivo mayores de 30 años.
- Cuello clínicamente sospechoso incluso si la citología es normal
- Evaluación de lesiones de vagina, vulva y ano.

- Seguimiento sin tratamiento a mujeres seleccionadas con diagnóstico LSIL.
- Seguimiento después del tratamiento de SIL o cáncer.²⁸

2.1.4.4 Hibridación Molecular: Puede detectar la presencia de tipos de VPH de alto riesgo antes incluso de que existan alteraciones visibles de las células de cuello uterino, lo que garantiza una identificación mas temprana de las mujeres con mayor riesgo de cáncer uterino.

Tiene como ventaja la posibilidad de semicuantificar la carga viral aunque ésta cuantificación solamente indica el número de copias virales y no puede ser corregida en función del número de células obtenidas en la toma. El inconveniente principal es que no permite distinguir entre los diferentes tipos virales ni la presencia de infecciones múltiples.

El test de captura de híbridos tipo I (HC I) tiene una sensibilidad igual a la citología cervicovaginal en la detección de neoplasia. Sin embargo, la citología tiene mejor especificidad que el HC I y que el HC II. Este test no está concebido como un sustituto de la detección sistemática regular mediante citología, ni como prueba para el cribado en mujeres menores de 30 años de edad con pruebas de Papanicolaou normales.²⁹

2.1.4.5 Sistema basado en la reacción en cadena de la Polimerasa (PCR): es una técnica dotada de alta sensibilidad ya que amplifica enzimáticamente cantidades mínimas de ADN viral, pero requiere tecnología muy complicada. A pesar de su gran especificidad y sensibilidad que la hacen método de referencia, el problema

²⁸ Ibid., p 33

²⁹ Ibid., p.50

fundamental aparte de su relativo costo radica en la necesidad de disponer de laboratorios limpios y perfectos y personal especializado, ya que su extrema sensibilidad puede plantear problemas de contaminación lo cual aparece con mucha frecuencia independientemente del ADN que se esté utilizando, e incluso de interpretación diagnóstica si no se dispone de material de entrenamiento adecuado. Es por esto que para la detección del VPH es más práctico usar técnicas estandarizadas como es la captura de híbridos.

2.1.5 Tratamiento y seguimiento

2.1.5.1 Tratamiento de condilomas: La tendencia generalizada es tratar los condilomas con el objetivo de examinar la posibilidad de contener virus oncogénico, controlar la enfermedad, limitar la ansiedad de la paciente y mejorar su autoestima. El tratamiento es determinado por una serie de factores como son el cuadro clínico de la infección, el estado inmunitario del huésped, costo, y el potencial progresivo de algunos tipos virales, entre otros. En general, para lesiones iniciales pequeñas y poco extensas se efectúa tratamiento médico; para lesiones antiguas, extensas y recidivantes, tratamientos quirúrgicos y en lesiones muy extensas y recalcitrantes puede realizarse tratamiento mixto.³⁰

2.1.5.2 Lesión intraepitelial de bajo grado asociada a VPH: Dada la posible regresión del LSIL, la conducta terapéutica se debe seguir para un 10% a 20% de lesiones que son las que progresan. Aquellas lesiones que tienden a involucionar espontáneamente se dejan en observación con controles citológicos y colposcópicos cada seis meses o cada año hasta que la lesión desaparezca.

³⁰ Ibid., p.37

Para el tratamiento se puede utilizar cualquiera de los métodos descriptivos locales como electrocauterización, criocirugía, vaporización con láser o con radiofrecuencia, o cualquier otro método que a juicio clínico garantice la destrucción completa de la lesión. Cuando ésta sea endocervical y no se visualice el límite superior de la misma, se debe realizar legrado del endocérvix residual ya que la lesión puede acompañarse de otra de mayor grado.

2.1.5.3 Lesión intraepitelial de alto grado asociada a VPH: La conducta cambia de acuerdo a las circunstancias y cada caso debe ser analizado individualmente teniendo en cuenta factores como la edad, deseos de gestación futura, localizaciones y extensión de la lesión, riesgo quirúrgico y facilidad de seguimiento de la paciente.

En especial, para lesiones muy limitadas visibles en toda su extensión, sin compromiso del canal se sugiere criocirugía, vaporización láser o procedimientos LEEP o LLETZ, o conos pocos profundos. En el caso de haber compromiso del canal y la lesión ser más extensa se debe realizar cono clásico bien sea con bisturí frío, radiofrecuencia o láser con carácter terapéutico. En el diagnóstico histopatológico de micro infiltración, se realiza proceso de histerectomía abdominal ampliada.³¹

2.1.5.4 Vacunas: En cuanto a tratamiento y vacunas, el objetivo es doble. Debe evitarse la infección y además impedir la progresión a lesiones precursoras existentes.

³¹ Ibid., p.37-38

Ante la problemática mundial por el incremento del cáncer de cuello uterino asociado a las cepas oncogénicas del VPH, se ha despertado el interés de ciertos países y sus grupos de investigación por la implementación de una vacuna que permita no solo inmunizar las células a la entrada del virus, sino combatir los ya existentes.

Desarrollos paralelos en naciones, hacen que la vacuna se encuentre en su estado final antes de salir al mercado. Ésta vacuna posee efectividad del 100% en prevención del cáncer del cuello uterino relacionado con los tipos 16 y 18; efectividad del 100% en lesiones precursoras del cáncer y del 99% para verrugas genitales causadas por éstos tipos.³²

Las vacunas contra el VPH tienen menos probabilidades que las destinadas a otras infecciones prevenibles con la vacunación, ya que no puede contener todos los genotipos necesarios para proteger contra las infecciones causadas por todos los VPH; pero dado que los problemas que generan estas infecciones no son tan importantes, los programas de salud pública por más imperfecta que sea su cobertura, redundan en beneficios inmensos para la salud de los individuos y de la comunidad.

2.2 TRATAMIENTO DIGITAL DE IMÁGENES

2.2.1 Fundamentos

Debido a la necesidad de años anteriores de resolver diferentes problemas presentes en el envío de información gráfica o análoga, junto a los de recepción e

³² Vanguardia Liberal. Entrevista a Nubia Muñoz. Junio 2006

interpretación de la misma, surge un área de la computación donde el procesamiento de información ha llevado a virtualizar escenarios requiriendo la utilización de tecnología teniendo en cuenta las diversas realidades sociales económicas e interpersonales. (Figura 10).

El interés de los métodos de procesamiento de imágenes digitales se fundamenta en dos áreas principales de aplicación: mejora de la calidad para la interpretación humana y el procesamiento de los datos de la escena para la percepción de las máquinas de forma autónoma.

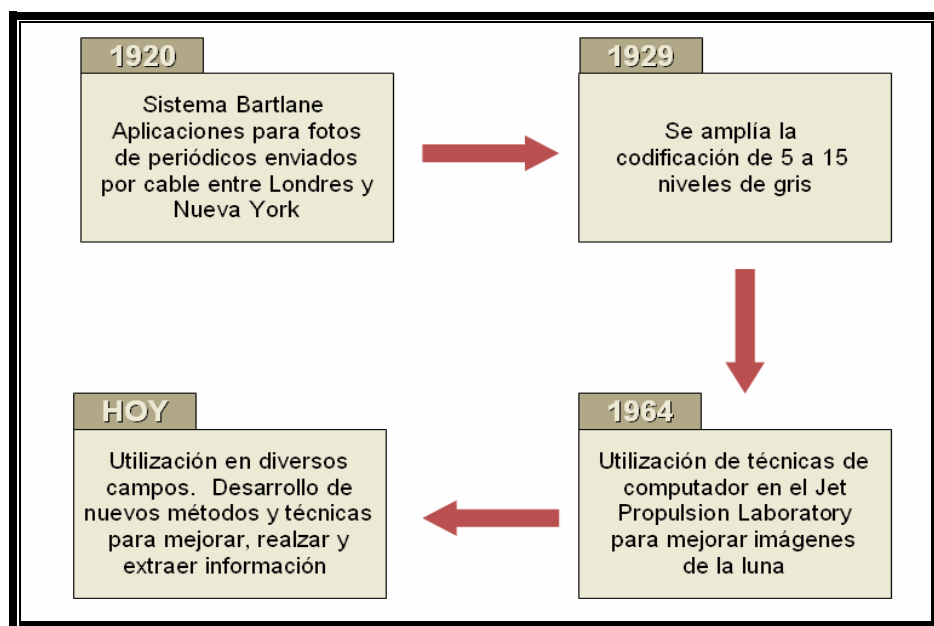


Figura 10. Influencia en el tiempo del tratamiento digital de imágenes.

Así mismo, la aplicación del tratamiento digital de imágenes puede dividirse en cuatro grupos:

- Obtención de la distancia de los objetos en la escena y estructura tridimensional mediante la utilización de técnicas de visión estereoscópica.

Una vez obtenida la distancia se puede realizar reconstrucción tridimensional de dicha escena.

- Detección de objetos en movimiento mediante la comparación de una secuencia lógica de imágenes obtenidas de la escena tridimensionales diferentes instantes de tiempo.
- Reconocimiento de patrones y formas. Los diferentes objetos van a estar caracterizados por una determinada forma de su contorno, que se describe de alguna manera o bien por la región que delimitan y sus propiedades.
- Reconocimiento de objetos tridimensionales, basado en las discontinuidades de las superficies de que se compone.

Entre tanto el tratamiento digital de imágenes se utiliza en:

- Determinar el número de ciertas partículas en diferentes compuestos.
- En fotografías vía aéreas (por ejemplo, para diferenciar cultivos o para avance de la desertización).
- Circuitos de microondas.
- Restauración de fotogramas y fotografías antiguas.
- Reconocimiento y/o autenticación de firmas.
- Biomedicina.

En la línea de Tratamiento Digital de Imagen se enmarca el procesamiento de las mismas, este término es utilizado para denominar las operaciones desarrolladas sobre datos o un número finito de elementos de particular localización y valor, con el objetivo de mejorar aspectos tales como la forma, evidenciar detalles, ayudar a

su interpretación o extraer algún tipo de información útil de la imagen. Con este fin, se pueden considerar cinco etapas importantes: adquisición, preprocesamiento, segmentación, descripción y reconocimiento. (Figura 11).

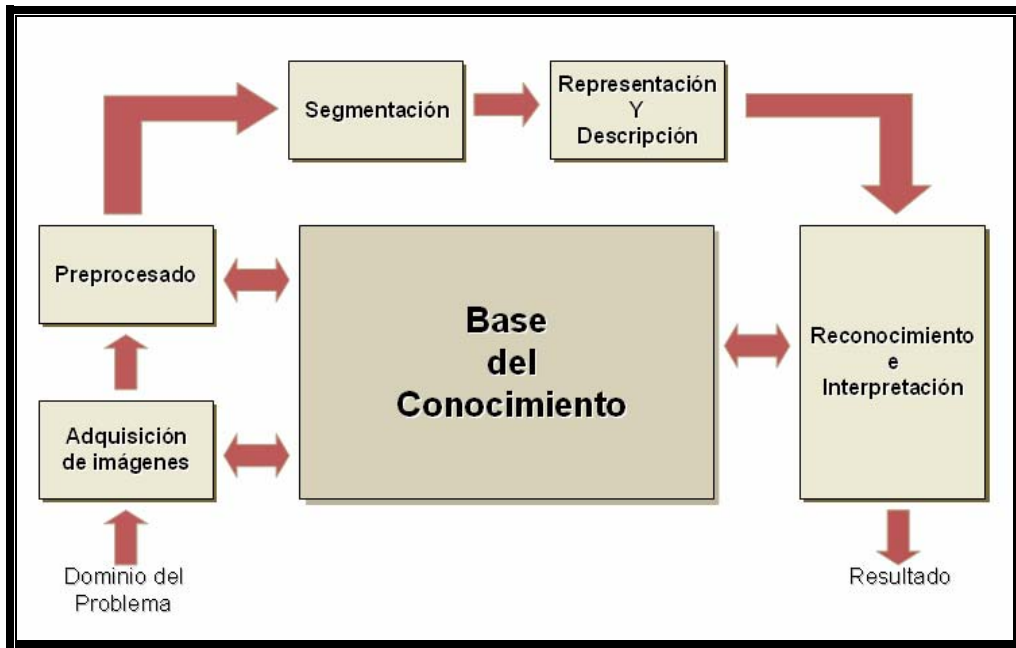


Figura 11. Etapas fundamentales del tratamiento de imágenes.³³

2.2.2 Adquisición de la imagen

Para esta etapa es indispensable involucrar dos elementos importantes:

Un dispositivo físico sensible a una determinada banda del espectro de energía electromagnética que produzca una señal de salida proporcional al nivel de energía detectado que bien puede ser un escáner que permite la captación y al

³³ GONZÁLEZ Rafael C, WOODS Richard E. Tratamiento Digital de Imágenes. Addison Wesley / Diaz de Santos.1996. 773p.

mismo tiempo la digitalización de la imagen con una resolución horizontal de lectura y una cierta cantidad de puntos/pulgada; o simplemente, emplear una cámara de TV o vídeo.

Un digitalizador utilizado para convertir la señal de salida del sistema sensible a forma digital con hardware apropiado para controlar la adquisición, transformándola a un formato gráfico apropiado que permita que la imagen obtenida ocupe menos espacio de memoria.

2.2.3 Preprocesamiento

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.³⁴

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

³⁴ 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.

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.

2.2.3.1 Procesamiento por punto: Aquellas operaciones que se realizan en función de las intensidades de cada píxel.³⁵

2.2.3.2 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.

2.2.3.3 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

³⁵ 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>

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.³⁶

2.2.4 Segmentación

Consiste en subdividir una imagen de entrada en sus partes constituyentes u objetos, el grado de subdivisiones depende del problema a resolver, por lo que la segmentación deberá detenerse cuando los objetos de interés hayan sido aislados.

La segmentación es una de los elementos más importantes en el tratamiento digital de imágenes, ya que en este los objetos se extraen de una imagen para su posterior reconocimiento y análisis, su objetivo es agrupar áreas de imagen que tengan características similares dentro de entidades distintas, que representen partes de la imagen.

A la salida del proceso de segmentación habitualmente se tienen los datos de píxel en bruto, que constituyen bien el contorno de una región o bien todos los puntos de una región determinada. En cada caso es necesario convertir los datos a una forma adecuada para el procesamiento por computador.

La segmentación está basada en dos principios fundamentales: discontinuidad, orientada a bordes y similitud, orientada a regiones.

³⁶ Curso de Tratamiento Digital de Imágenes Técnicas de filtrado espacial.

2.2.4.1 Discontinuidad: Suele usar la detección de bordes que considera el cambio de intensidad que se produce en los píxeles en el contorno o bordes de un objeto. Se usa para determinar el contorno de regiones con atributos similares.

2.2.4.2 Similitud: Este usa la fijación de umbrales y el crecimiento de regiones.

- Fijación de umbrales: es una técnica de conversión binaria en la que cada píxel es convertido a un valor binario, blanco o negro. Esto se realiza mediante un histograma de frecuencias de la imagen y estableciendo la intensidad o nivel de gris que va a ser el límite entre el blanco y el negro. Esta técnica es la más utilizada para la segmentación en aplicaciones de visión industrial, ya que es más rápida y más fácil de llevar a cabo.

Los umbrales globales tienen aplicaciones en situaciones donde existe una clara definición de objetos y entorno, y cuando la iluminación es relativamente uniforme.

Uno de los aspectos más importantes para seleccionar un umbral es la capacidad de identificar correctamente los picos de intensidad de un histograma dado, ya que resulta más sencillo seleccionar un buen umbral si los picos del histograma son altos, estrechos, simétricos y están separados por profundos valles, indicando donde se encuentra la imagen y la concentración del fondo.

- Crecimiento de región: es un conjunto de técnicas de segmentación en la que los píxeles se agrupan en regiones llamados elementos de cuadrícula

basada en similitudes de atributos. Las regiones definidas se podrán examinar en cuanto a si son independientes o se pueden fusionar a otras regiones por medio de un análisis de la diferencia de sus propiedades medias y su conectividad espacial.³⁷

Un método para este, es la adición o agregación de píxeles, en donde comienza con un conjunto de puntos semilla y se hace crecer las regiones añadiendo a cada punto semilla aquellos píxeles vecinos que tengan propiedades similares como intensidad, textura o color.

2.2.4.3 Morfología matemática: Las transformaciones morfológicas constituyen usualmente una parte intermedia de la secuencia del procesamiento de imágenes. En una primera fase, la imagen es digitalizada y preprocesada usando operadores de convolución locales y luego es segmentada para obtener una imagen binaria en la que se separan los objetos del fondo. Las operaciones morfológicas pueden formar una segunda fase que opera sobre la forma de esos objetos. La morfología matemática se puede usar, entre otros, con los siguientes objetivos:

- Preprocesamiento de imágenes (supresión de ruido)
- Destacar la estructura de los objetos (extraer el esqueleto, marcado de objetos, envolvente convexa, ampliación, reducción).
- Descripción cualitativa de objetos (área, perímetro, etc.).³⁸

³⁷ Segmentación. Unid 751 a 754. <<http://www.itapizaco.edu.mx/paginas/ttm/unid751.html>>

³⁸ Operaciones Morfológicas en Imágenes Binarias, Primera parte. Universidad Nacional de Quilmes – Ingeniería en Automatización y Control Industrial Cátedra: Visión Artificial Agosto de 2005 <<http://iaci.unq.edu.ar/Materias/vision/archivos/apuntes/Operaciones%20Morfol%C3%B3gicas%20en%20Im%C3%A1genes%20Binarias%20-%20parte%201.pdf>>

- La morfología matemática describe las imágenes basada en la forma y en la estructura empleando la teoría de conjuntos para representar las formas de los objetos en una imagen, proporciona una herramienta para la extracción de componentes útil en la representación y descripción de la forma de una región.

El objetivo de las transformaciones morfológicas es la extracción de estructuras geométricas en los conjuntos sobre los que se opera, mediante la utilización de otro conjunto de forma conocida denominado elemento estructurante. El tamaño y la forma de éste elemento se escoge, a priori, de acuerdo a la morfología del conjunto sobre el que se va interaccionar y de acuerdo a la extracción de formas que se desean obtener. (Figura 12)

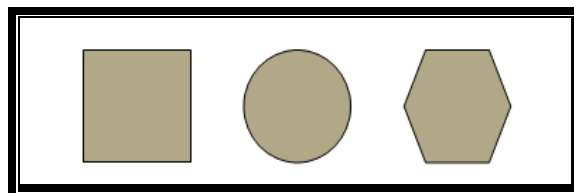


Figura 12. Ejemplo de formas básicas de elementos estructurantes planos.³⁹

La dilatación, erosión, apertura y cierre, son las cuatro operaciones básicas en la morfología matemática cuyas combinaciones se pueden generar resultados interesantes en la segmentación de las imágenes.

- Dilatación: como su propio nombre sugiere consiste en hacer crecer en tamaño el conjunto de puntos original. Como en cualquier otra operación

³⁹ Fundamentos de Morfología matemática. Procesamiento Morfológico de Imágenes en color. Aplicación a la Reconstrucción geodésica. Capitulo 3.
<http://descargas.cervantesvirtual.com/servlet/SirveObras/57915842105571617400080/008591_3.pdf>

de Morfología Matemática, el aumento será función del elemento estructural utilizado. (Figura 13).

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

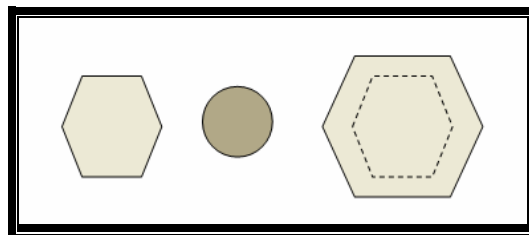


Figura 13. Representación de la dilatación con su elemento estructurante.

- Erosión: consiste en hacer decrecer en tamaño el conjunto de puntos original. Es el resultado de comprobar si el elemento estructurante está totalmente incluido dentro del conjunto; de lo contrario, el resultado de la erosión es el conjunto vacío. (Figura 14).

$$A \ominus B = \{x \mid (B')_x \cap A \neq \emptyset\}$$

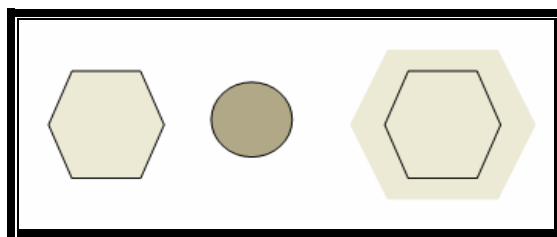


Figura 14. Representación de la erosión con su elemento estructurante.

La erosión y la dilatación usualmente se emplean por pares, bien la dilatación seguida por la erosión o al revés. En cualquier caso, el resultado de esta aplicación sucesiva de erosiones y dilataciones es una eliminación

de detalles menores que el elemento estructural, sin distorsionar la forma global del objeto.

- Apertura: Sirve para eliminar pequeños detalles claros, pues lo que hace es erosionar para eliminar detalles pequeños oscuros, y más tarde dilatar para recuperar, ya sin esos detalles, el nivel de gris del principio. Generalmente suaviza los contornos de una imagen.

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

- Cierre: Es la operación o conjunto de operaciones, contraria a la apertura. La aplicación de la dilatación al principio, elimina los detalles de poca importancia de un nivel más claro, y la aplicación posterior de la erosión restablece el nivel del principio de gris general. Tiende a suavizar las secciones de contornos pero en sentido inverso, une separaciones estrechas y golfos estrechos, elimina huecos y pequeñas discontinuidades en las fronteras.⁴⁰

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

2.2.5 Descripción

Consiste en extraer rasgos con alguna información cuantitativa de interés o que sean fundamentales para diferenciar una clase de objetos de otra, buscando reconocer las diferentes estructuras de la imagen para su identificación de forma

⁴⁰ MOSQUERA, González Antonio. Procesado Morfológico Tratamiento Computacional de Imágenes. <<http://gva1.dec.usc.es/~antonio/docencia/20042005tci/teoria/procesadomorfologico/ProcesadoMorfologico.html>>

inequívoca. Por lo general los descriptores deben ser independientes del tamaño de la localización y orientación del objeto y deben contener suficiente información de discriminación para distinguir un objeto del otro. Se puede diferenciar entre descriptores de borde o frontera, y descriptores de regiones.

2.2.5.1 Descriptores de frontera o borde: el objetivo de éstos descriptores es la identificación de los bordes, mediante ajuste de rectas, curvas, funciones polinómicas, códigos de cadena, entre otros.

- Códigos de cadena: usados para representar una frontera como un conjunto de segmentos con longitud y dirección especificada. Esta representación se establece sobre una cuadrícula rectangular usando conectividad 4 u 8. La longitud de cada segmento viene dada por la resolución de la cuadrícula y las direcciones las fija el código elegido.
- Firmas: es una representación funcional unidimensional de una frontera. Existen muchas formas de obtener una firma, una de las más sencillas es representar las distancias desde el centro hasta la frontera como una función del ángulo, las cuales dependen del tamaño del punto de comienzo.
- Descriptores de Fourier: corresponde al módulo de los coeficientes complejos de Fourier. Son invariantes a la rotación. La fase de los coeficientes de Fourier proporciona información acerca de la orientación y de la simetría de la región.⁴¹

⁴¹ PAJARES, Op. Cit. p. 213-225

- Momentos: es una herramienta útil para la descripción cuantitativa de los segmentos de borde y las firmas. Tiene la ventaja de llevar implícitamente en los primeros momentos información sobre la forma física de los bordes.
- Ajuste de elipses: en la mayoría de imágenes que tienen formas circulares casi siempre aparecen formas elípticas. Por tal razón, se busca obtener una elipse que sea lo más parecido al borde de una región para posteriormente extraer las características de éstas tales como eje mayor, eje menor, orientación y posición.

2.2.5.2 *Descriptores de región*: encaminados a obtener propiedades tales como color, textura, superficie, nivel medio de intensidad, o sus características internas. Se pueden dividir en tres tipos: descriptores topológicos, métricos y de textura.

- Descriptores Topológicos: utilizados para descripciones globales de regiones del plano imagen, se caracterizan principalmente por no depender de las variaciones que puedan presentar las regiones y no involucran nociones de distancia. Las más usadas normalmente son el número de componentes conectados y el número de huecos en la región.
- Descriptores Métricos: son generalizaciones de la distancia euclidiana. Entre las propiedades métricas más comunes se encuentran el área, perímetro, centro de gravedad, ejes mayor y menor y redondez.

Área: el área de una región se define como el número de píxeles contenidos en su frontera.

Perímetro: es la longitud de su frontera, y se obtiene a partir del código de cadena de la frontera.

Centro de gravedad: único punto representativo de la región.

Eje mayor y menor: empleados al obtener la orientación de la región.

Redondez: indica la calidad de redondo de una región.

- Descriptores de Textura: proporcionan información sobre la distribución espacial del color en la imagen utilizando tres métodos principales: estadísticos, estructurales y espectrales.

Estadísticos: proporcionan características de texturas tales como suavidad, rugosidad y granulosidad utilizando los momentos del histograma como la varianza.

Estructurales: se enfocan a la composición de primitivas de las imágenes, tales como la descripción de textura basada en líneas paralelas regularmente espacial.

Espectrales: basados en las propiedades del espectro de Fourier, empleados para detectar la periodicidad global de una imagen mediante identificación de picos de alta energía del espectro.⁴²

⁴² Ibid., p 239 - 260

2.2.6 Reconocimiento e interpretación

Es el proceso que asigna una etiqueta a un objeto basándose en la información proporcionada por sus descriptores. La interpretación implica asignar significado a un conjunto de objetos reconocidos. El reconocimiento consta de tres métodos principales, de decisión teórica, de reconocimiento estructural y de interpretación de imágenes.

2.2.6.1 Decisión teórica: se basa en la representación de patrones en forma vectorial y en la búsqueda posterior de aproximaciones que permitan agrupar y asignar patrones vectoriales a las diferentes clases de patrones.

2.2.6.2 Reconocimiento estructural: los patrones se representan en forma simbólica (como cadenas y árboles) y los métodos de reconocimiento se basan en el emparejamiento de símbolos o en modelos que tratan a los patrones de símbolos como sentencias de un lenguaje artificial.⁴³

2.2.6.3 Interpretación de imágenes: consiste en asignar un significado a un conjunto de elementos reconocidos en dicha imagen. Las técnicas para la interpretación de imágenes se basan en la lógica de predicados, en redes semánticas y en sistemas de producción. (Tabla 6).⁴⁴

⁴³ GONZALEZ, Op. cit. p 535-555

⁴⁴ Ibid., Capítulo Reconocimiento

ADQUISICIÓN		
PREPROCESAMIENTO	Procesamiento por punto Filtrado en la frecuencia espacial. Filtrado en el dominio de la frecuencia.	
SEGMENTACIÓN	Discontinuidad	
	Similitud	Fijación de Umbrales Crecimiento de Regiones
	Morfología Matemática	Dilatación Erosión Apertura Cierre
DESCRIPCIÓN	De frontera o borde	Códigos de Cadena Firmas Descriptores de Fourier Momentos Ajuste de elipses
	De regiones	Descriptores Topológicos Descriptores Métricos
RECONOCIMIENTO E INTERPRETACIÓN	Decisión Teórica Reconocimiento Estructural Interpretación de Imágenes	

Tabla 6. Síntesis Etapas del Procesamiento de Imágenes.

3. METODOLOGÍA DE DESARROLLO

3.1 METODOLOGÍA

Con el fin de obtener un software de calidad y tratar de satisfacer el objetivo principal del proyecto, se recurrió al proceso unificado de desarrollo el cual usa un único lenguaje de modelamiento UML para la implementación de todos los modelos. El proceso está dividido en ciclos a su vez fragmentados en fases de referencia y basado en componentes con interfaces bien definidas posteriormente ensambladas para generar el sistema.

Los ciclos anteriormente mencionados suelen dividirse en el tiempo en cuatro fases que analizadas en el contexto del proyecto permitieron el crecimiento gradual y posterior culminación del mismo.

3.1.1 Etapa de inicio

En el transcurso de esta fase entran a consideración aspectos fundamentales con los cuales pudiera consolidarse una plataforma de trabajo sólida y bien delimitada.

3.1.1.1 Alcance: identificación de criterios que puedan indicar presencia de virus de papiloma humano en células de citologías cervicouterinas por medio de una herramienta software asistida, que brinde al personal médico encargado del diagnóstico apoyo en la toma de decisiones y promueva a mediano plazo la integración de proyectos relacionados con patologías del cérvix en búsqueda de un instrumento robusto.

3.1.1.2 Identificación de riesgos:

- Grado de Identificación baja o nula de aspectos importantes para la determinación de los parámetros de la enfermedad.
- Dificultad en la consecución de la totalidad de la muestra.
- Pérdida de información de las imágenes causada por equipos inapropiados y condiciones de los mismos.
- Falta de apoyo de personal capacitado.
- Métodos y materiales inadecuados en la adquisición de las imágenes.

3.1.1.3 *Actores Participes*: existen tres clases principales identificadas dentro de este grupo.

- Patólogos encargados de la búsqueda y adquisición de las imágenes y del apoyo académico en aspectos del área de la salud desconocidos para el personal desarrollador.
- Desarrolladores de software.
- Directivos Académicos del proyecto.

Adicional a los anteriores aspectos se abarcaron tareas como identificación de casos de uso (Figura 15), estimación de recursos y realización del estudio en el área de patología clínica.

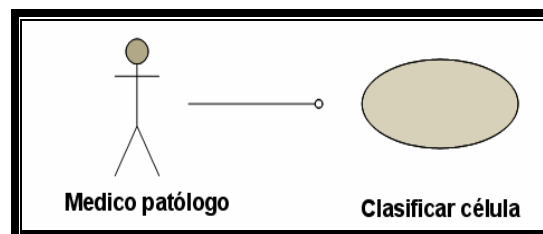


Figura 15. Diagrama de casos de Uso para etapa de inicio.

3.1.2 Etapa de Elaboración

Esta fase contiene actividades como

- Definición de los requerimientos del software.
- Mitigación de los riesgos relativos a los materiales, gracias a la consecución de equipos adecuados.
- Análisis de parámetros a tener en cuenta en la caracterización de las imágenes con los respectivos algoritmos necesarios.
- Postulación de métodos de reconocimiento útiles en la identificación de parámetros.
- Diseño de la interfaz de usuario y de la base de datos.
- Esbozo de diagramas de casos de uso (Figura 16) y de análisis (Figura 17).

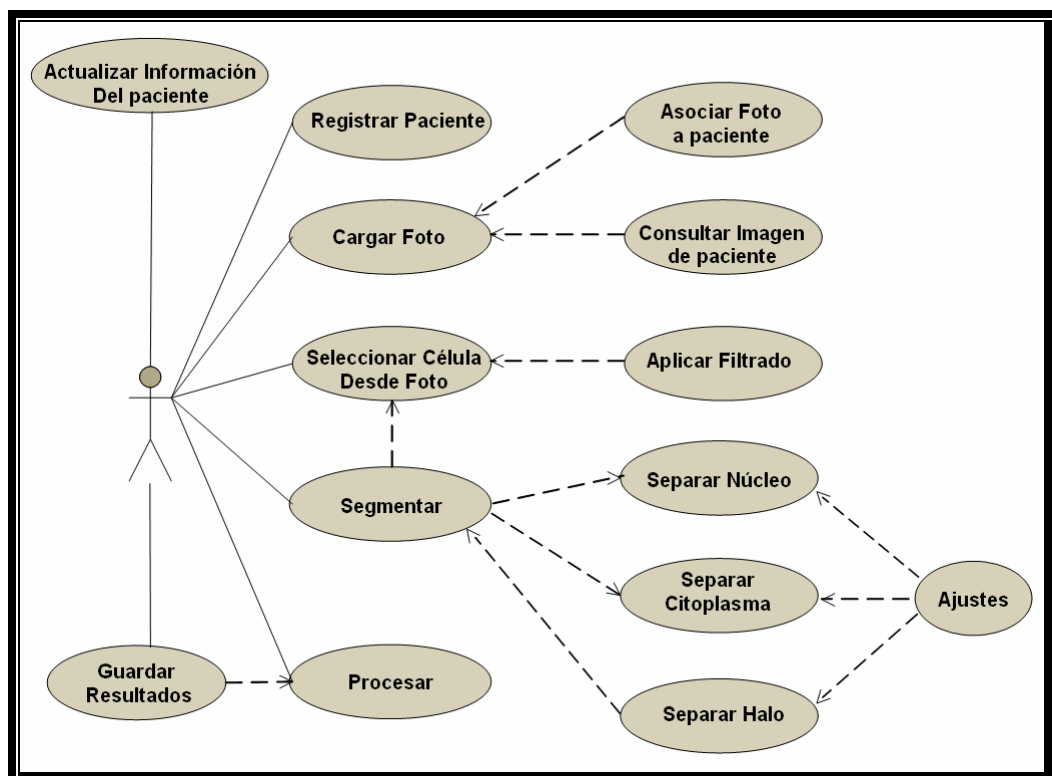


Figura 16. Diagrama del modelo de Casos de Uso.

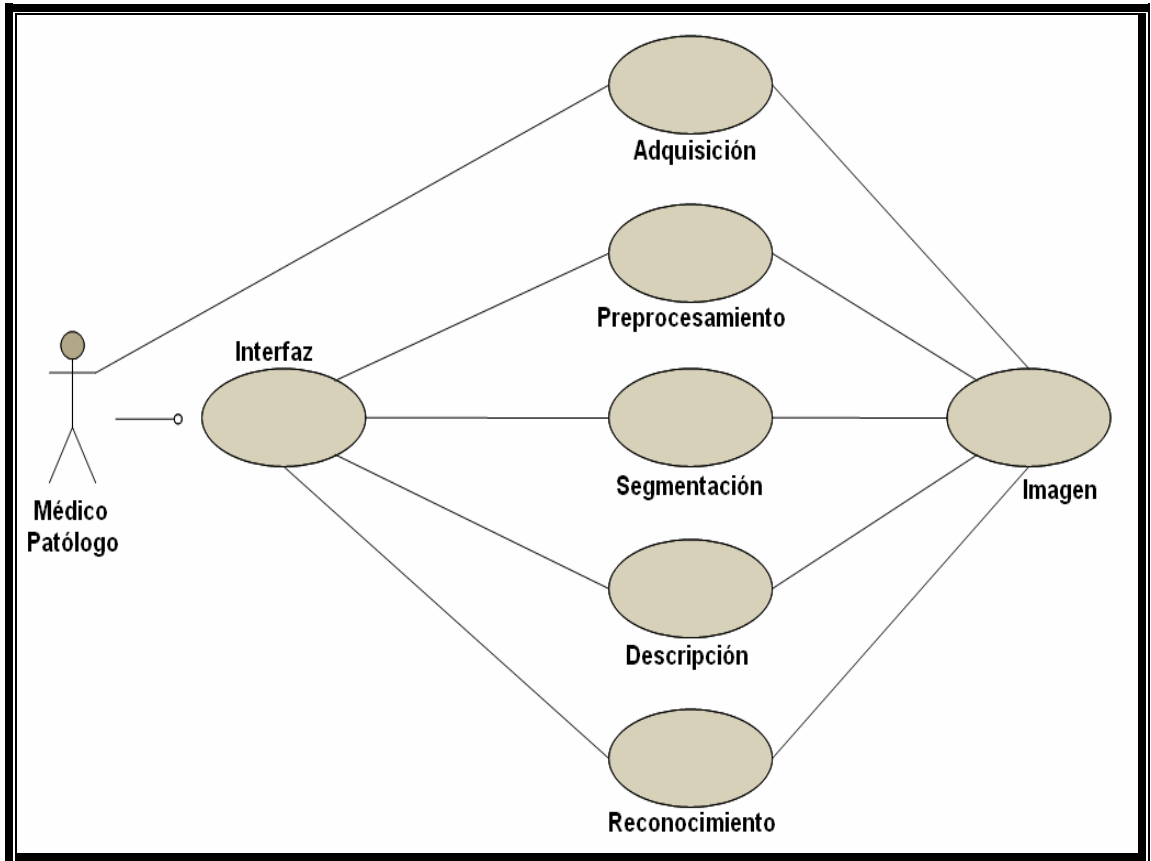
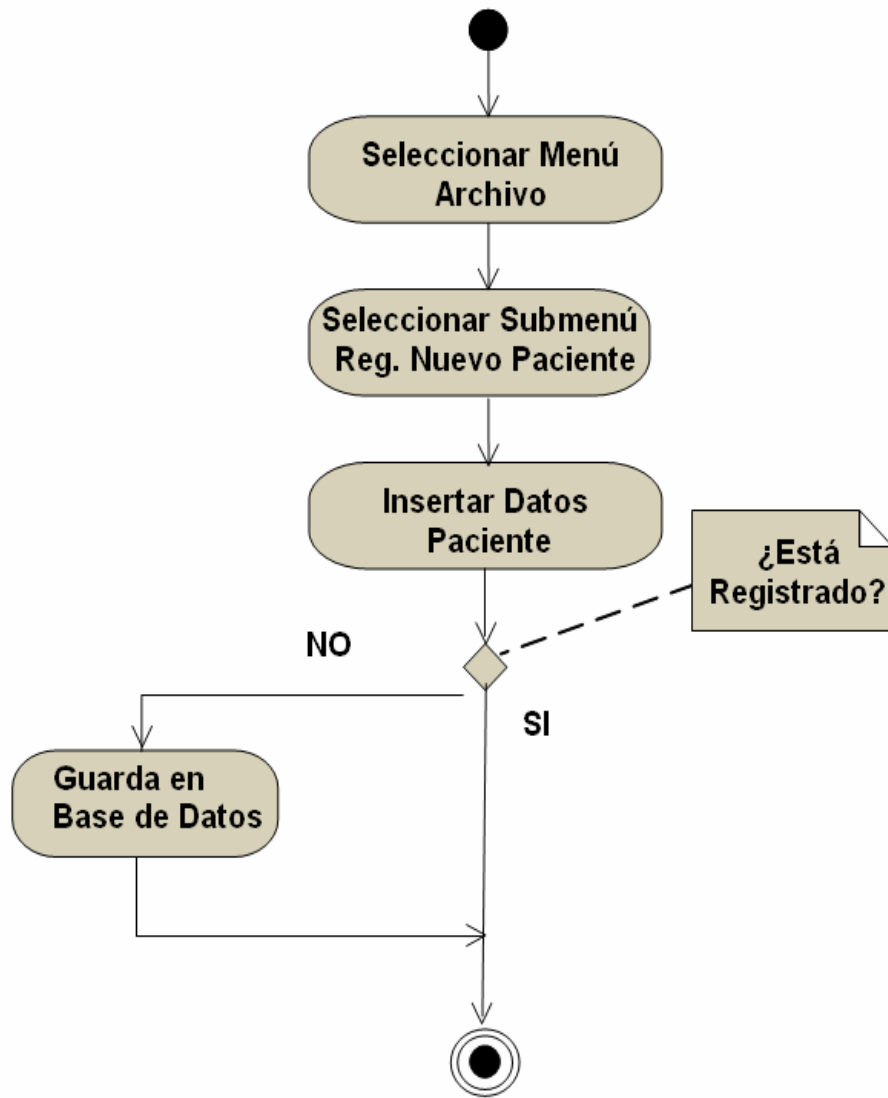


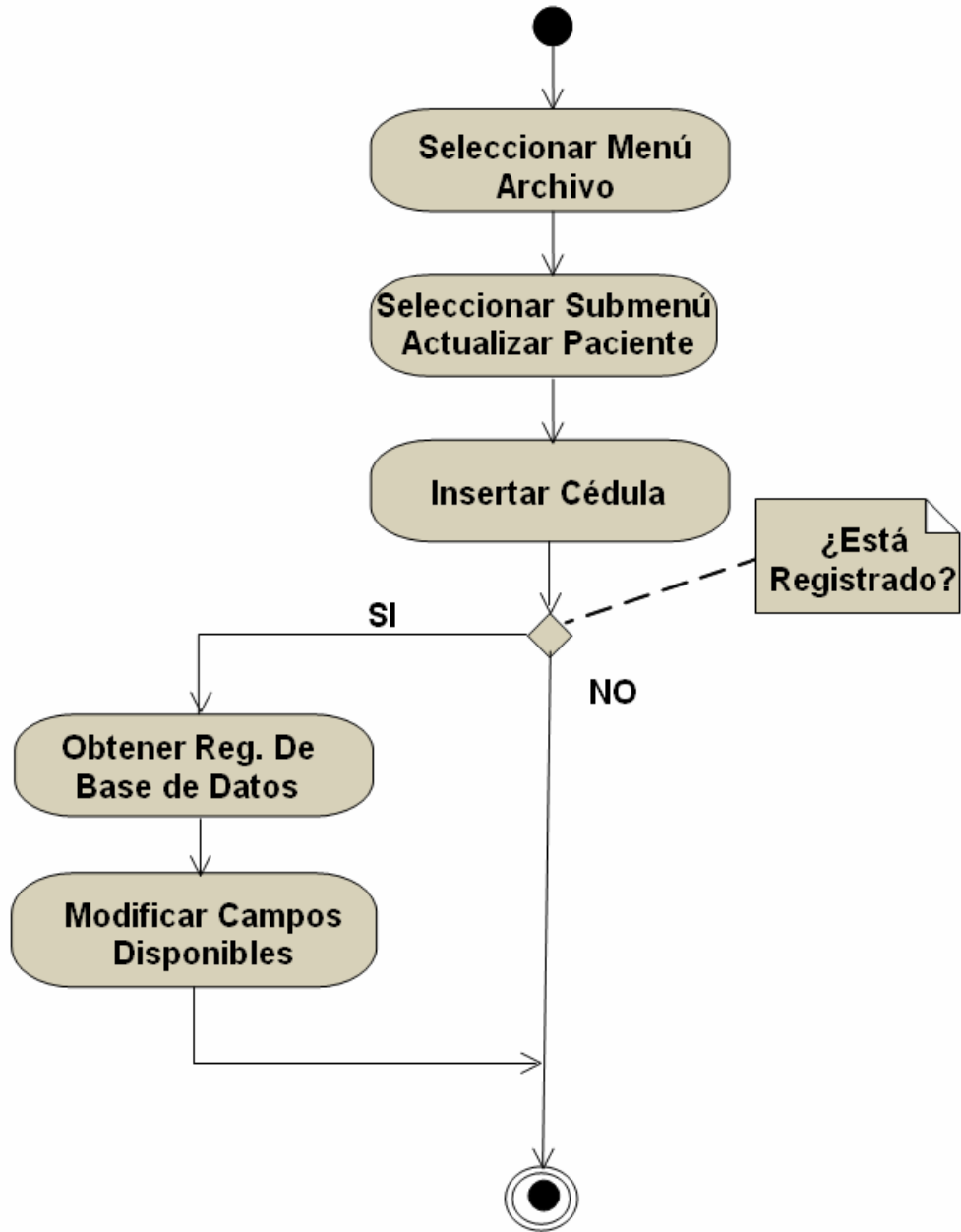
Figura 17. Diagrama del modelo de análisis.

3.1.3 Etapa de Construcción

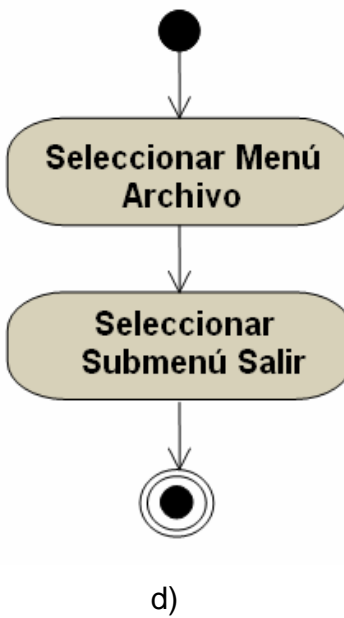
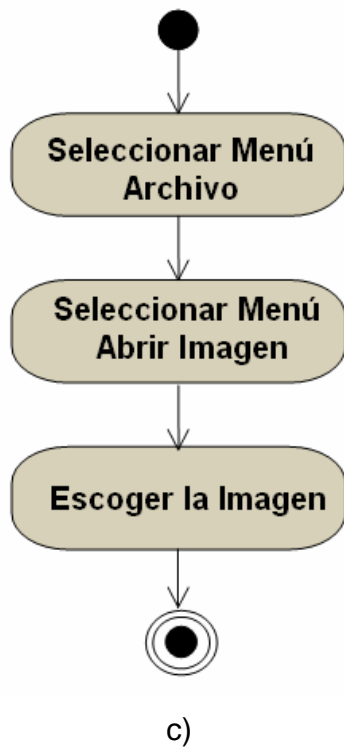
Es la fase de optimización y control de los procesos de construcción del software, en la cual se completó el desarrollo de los componentes o subsistemas, probándolos contra un conjunto definido de criterios aprobados al inicio del proyecto. A su vez, fueron implementados los diagramas de actividades de UML correspondientes a los diferentes módulos del sistema y etapas del procesamiento de imágenes. (Figura 18).

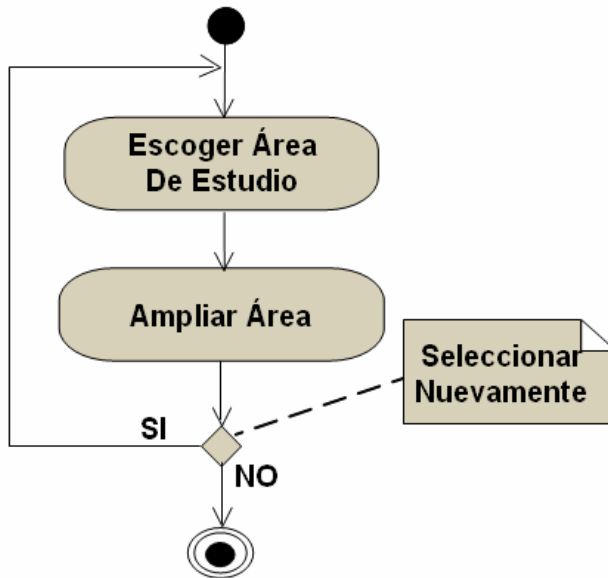


a)

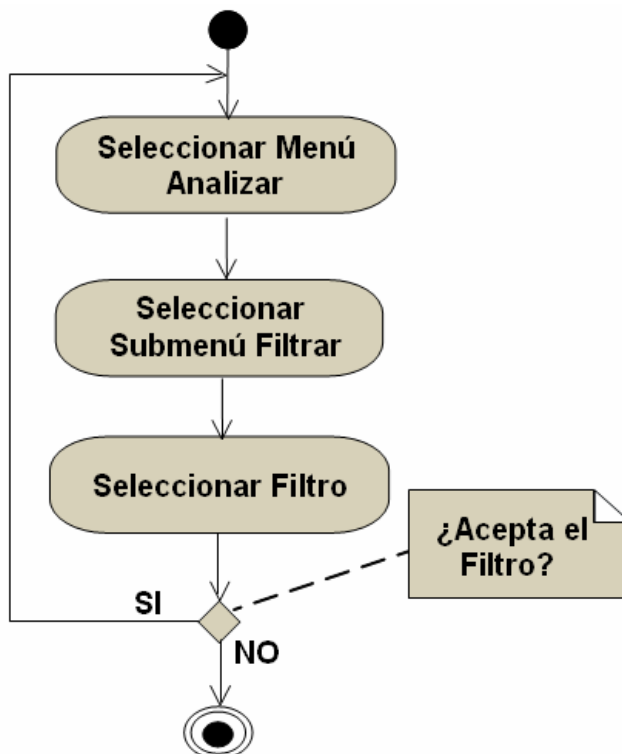


b)

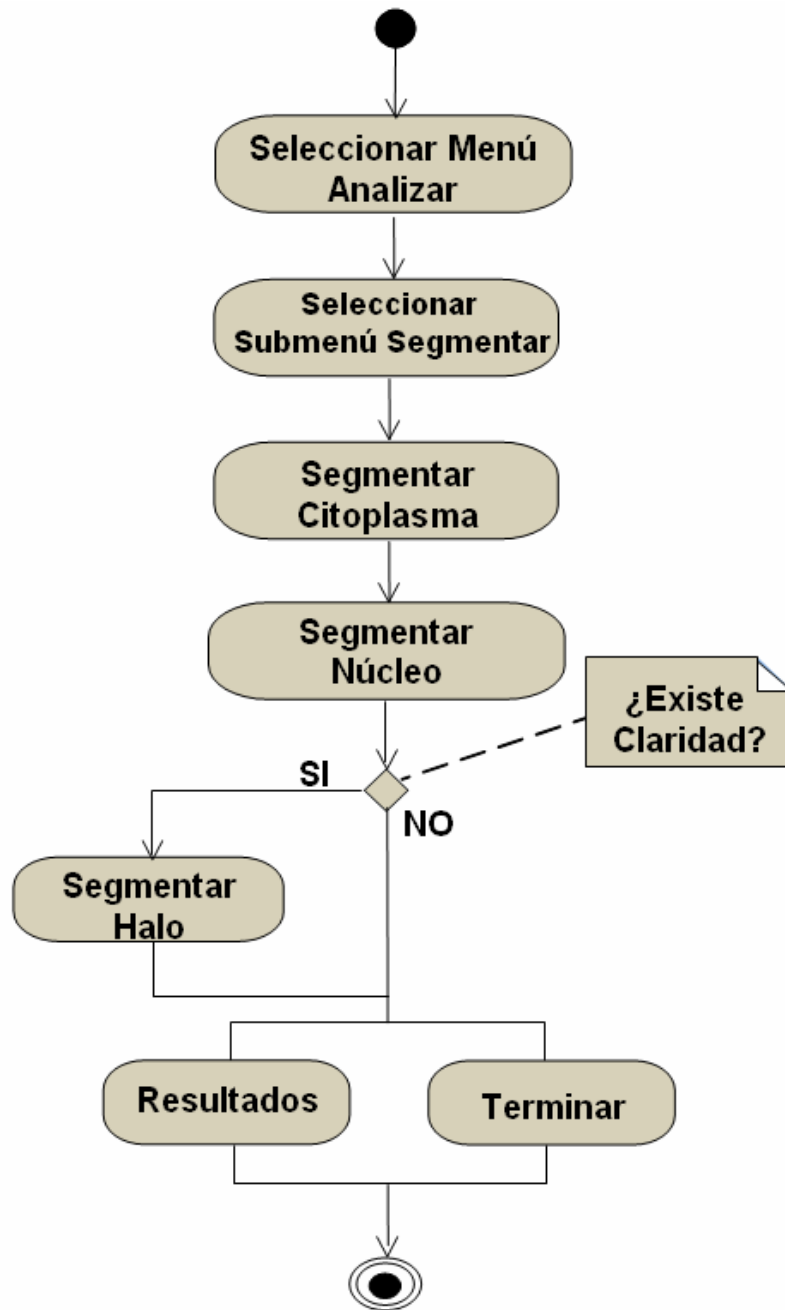




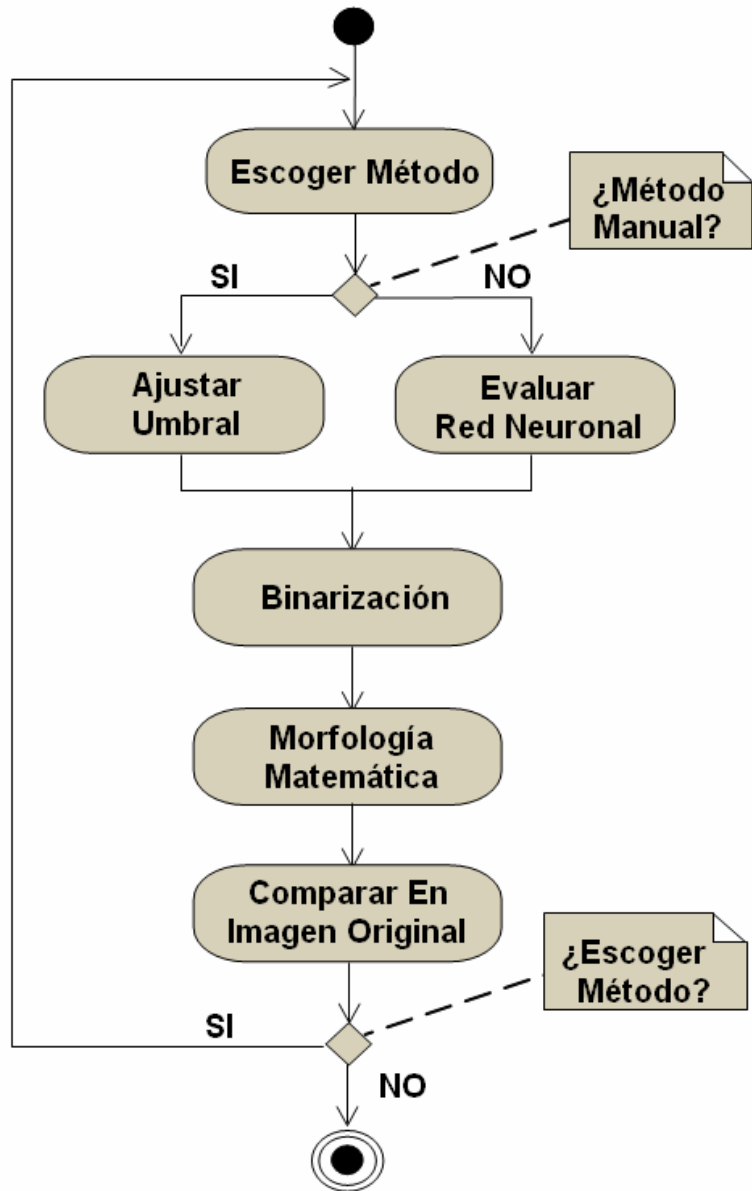
e)



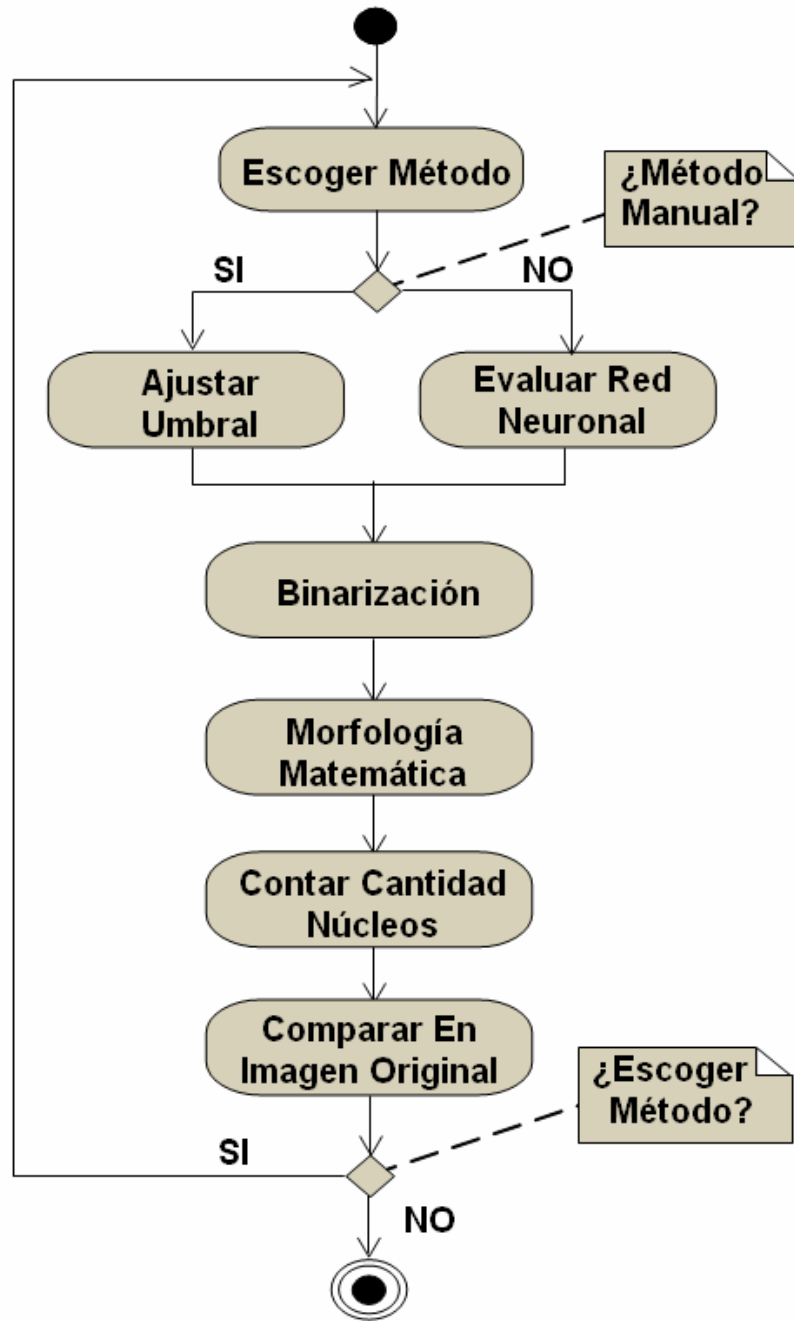
f)



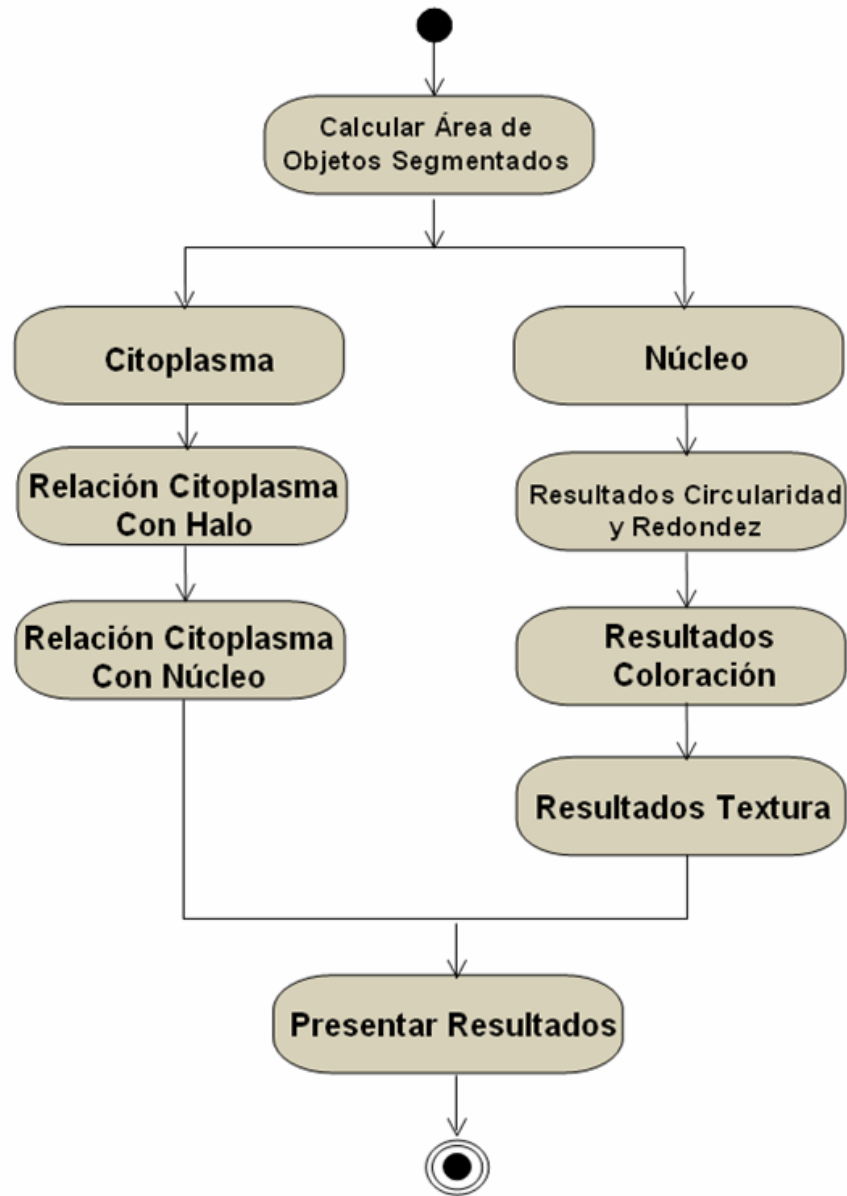
g)



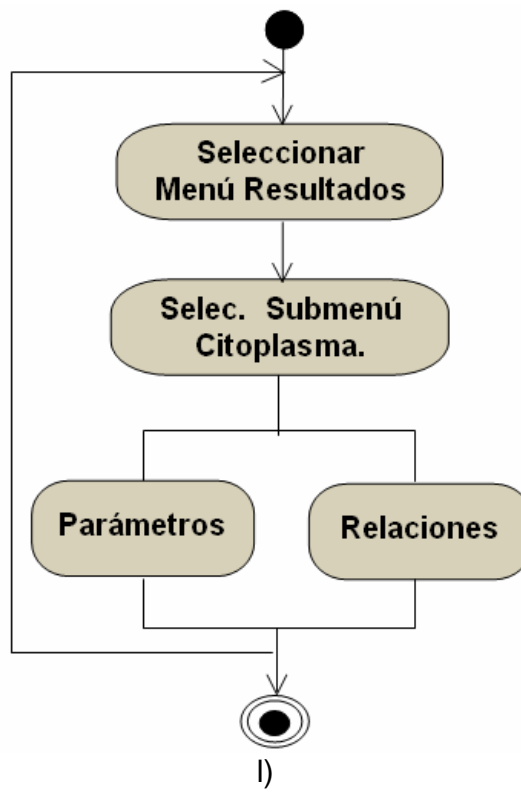
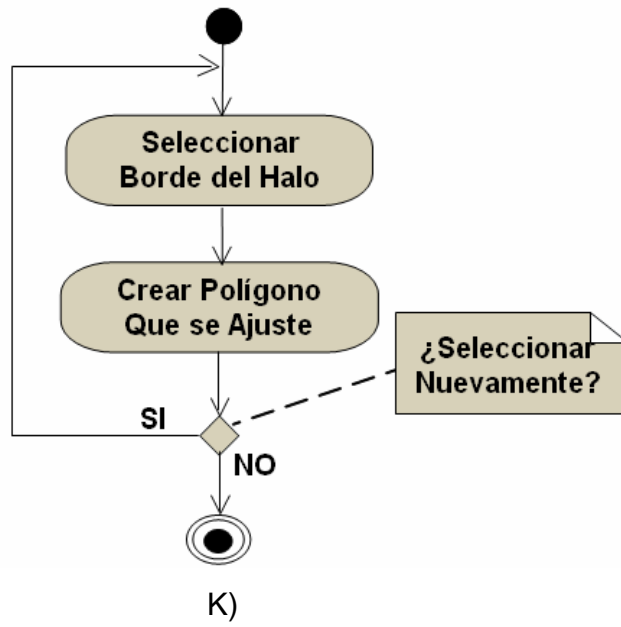
h)

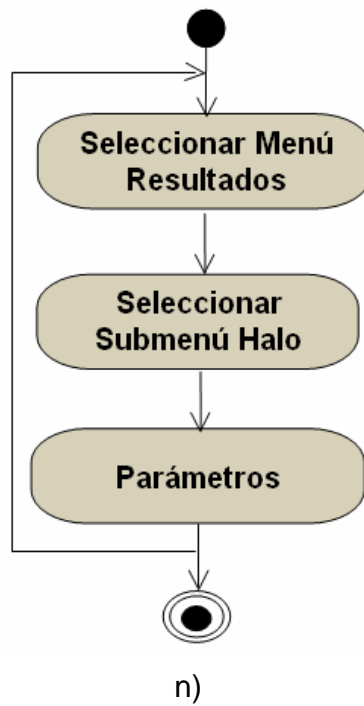
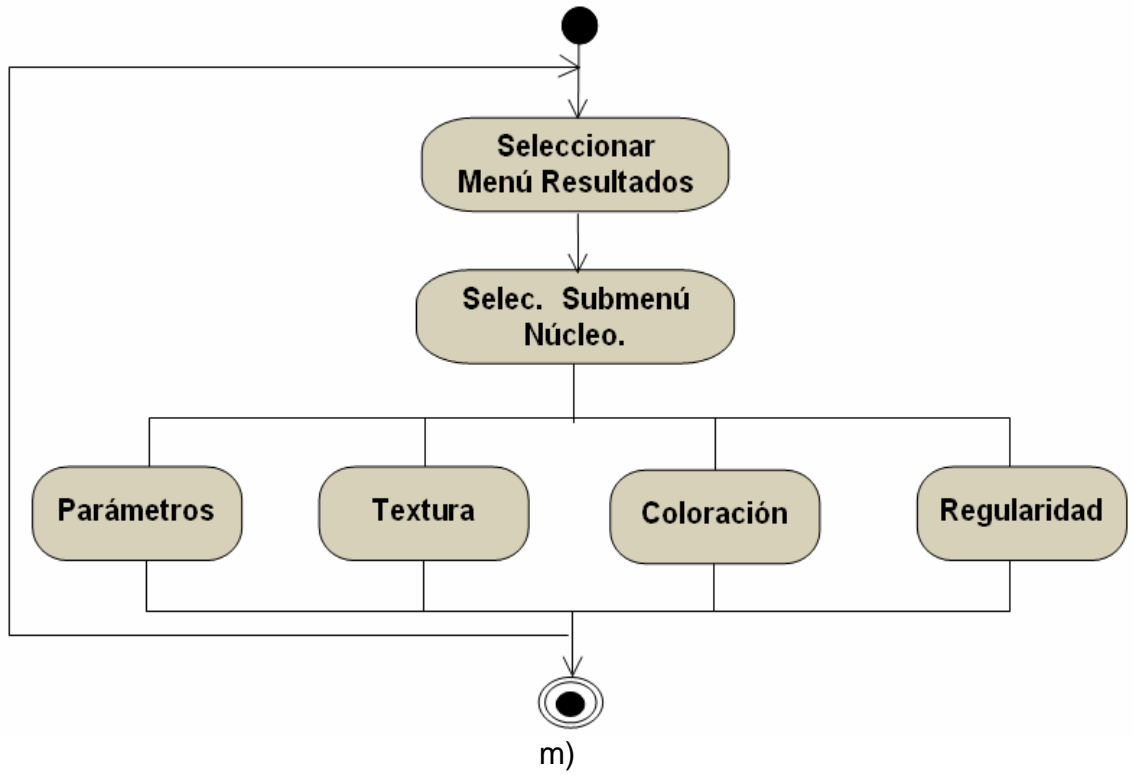


i)



j)





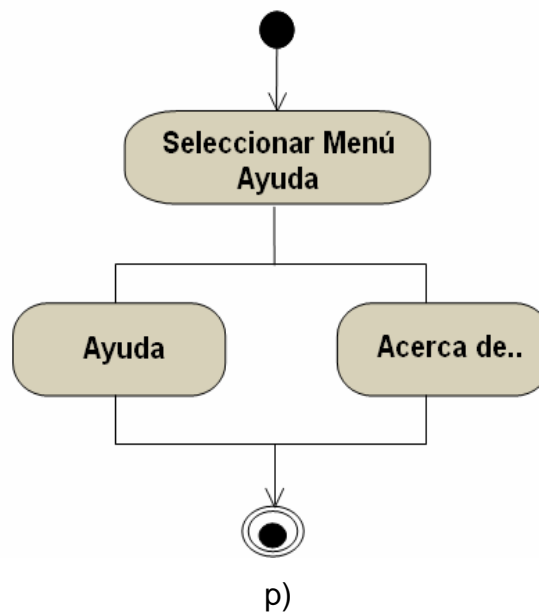
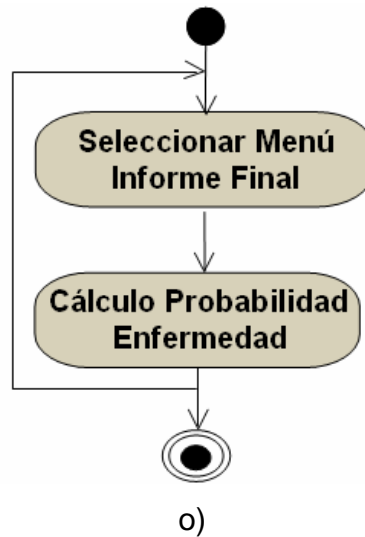


Figura 18. Diagramas de Actividades. a) Registrar Nuevo Paciente. b) Actualizar Paciente. c) Cargar Imagen. d) Menú Salir. e) Seleccionar Imagen. f) Filtrar Imagen. g) Segmentar Imagen. h) Segmentar Citoplasma. i) Segmentar Núcleo. j) Segmentar Halo. k) Resultados Citoplasma. l) Ver Resultados. m) Resultados Núcleo. n) Resultados Halo. o) Informe final. p) Ayuda.

La mayoría de los riesgos se superaron, sin embargo la cantidad de imágenes adquiridas no representaba una muestra significativa.

3.1.4 Etapa de Transición

Contempló la realización de acciones como:

- Verificación de objetivos y requerimientos trazados al inicio del proyecto.
- Ajuste de errores y defectos presentados en el sistema.
- Revisión por parte del médico patólogo y exposición de su punto de vista.
- Entrega de un prototipo operacional colocando el producto a disposición del usuario.

Las etapas previamente descritas están constituidas de flujos básicos sobre los cuales se itera a medida que se avanza en el desarrollo del proyecto.

- Requisitos: se aclaró el punto de vista y las necesidades del usuario final junto con todas las especificaciones del software tanto en utilidades como en interfaz gráfica, y se realizó la estimación del tiempo para la entrega del sistema y actividades intermedias.
- Análisis: se examinó íntegramente cada uno de los requisitos con el fin de obtener una visión más precisa de acuerdo a las utilidades del software.
- Diseño: se buscó transformar los requisitos en diseño del sistema a construir y adaptar dicho diseño al ambiente de implementación.

- Implementación: se definió la organización del código fuente en subsistemas, el almacenamiento de la base de datos y las interfaces de usuario; posteriormente se realizó el enlace de dichos componentes.
- Prueba: se validó que el producto funcionara como se diseñó y que los requisitos fueran implementados apropiadamente.

4. RECOLECCIÓN Y ADQUISICIÓN

4.1 RECOLECCIÓN DE MUESTRAS

Debido a la dificultad para la consecución de láminas de citología con infectadas con virus de papiloma humano, no fue viable la realización de un muestreo aleatorio, razón por la cual se acudió al muestreo selectivo por conveniencia mediante la ayuda de los patólogos, consistente en la discriminación de placas con descripción diferente, tomando una muestra retrospectiva.

Dentro de la muestra seleccionada se encontraron citologías coloreadas con hematoxilina. Se tuvo en cuenta el sistema de clasificación Bethesda y la presencia visible de coilocito en el extendido, así como células infectadas con VPH que no presentaban traslape y pudieran ser seleccionadas individualmente.

En definitiva, se obtuvieron 30 imágenes, muestra sugerida por epidemiología, en las que se basó la construcción de los algoritmos usados en la herramienta.

4.2 ADQUISICIÓN DE IMÁGENES

Para esta etapa fue necesario utilizar diversos modelos de adquisición con variación de los componentes, para mejorar la calidad de las imágenes resultantes y diferenciación de rasgos.

El primer esquema puesto en marcha, involucraba elementos pertenecientes al Laboratorio de Óptica y Tratamiento de Señales de la Escuela de Física, modelo que no fue conveniente, debido al aumento, resolución e iluminación que estos brindaban.

Para la implementación del segundo modelo se emplearon los equipos de la Facultad de Medicina de la Universidad Industrial de Santander, contando con microscopio, aumento de 40x. Se hizo necesario el empleo de cámara de video en blanco y negro conectada a una tarjeta de adquisición.

Este modelo se sustituyó gracias a la obtención de nuevos implementos por parte del Departamento de Patología de la Facultad de Medicina de la UIS. Para la adquisición de las imágenes con las que se desarrolló el proyecto, fueron usados un microscopio biológico Olympus CX31, una cámara digital Olympus C7070 Wide Zoom, y un computador portátil DELL Latitude 505.

Las imágenes se capturaron a color, con aumento de 40x, resolución 1200* 1600 píxeles y formato JPEG (Joint Photographic Experts Group), requisitos adecuados para el procesamiento de las mismas, siguiendo el esquema mostrado en la (Figura 19)

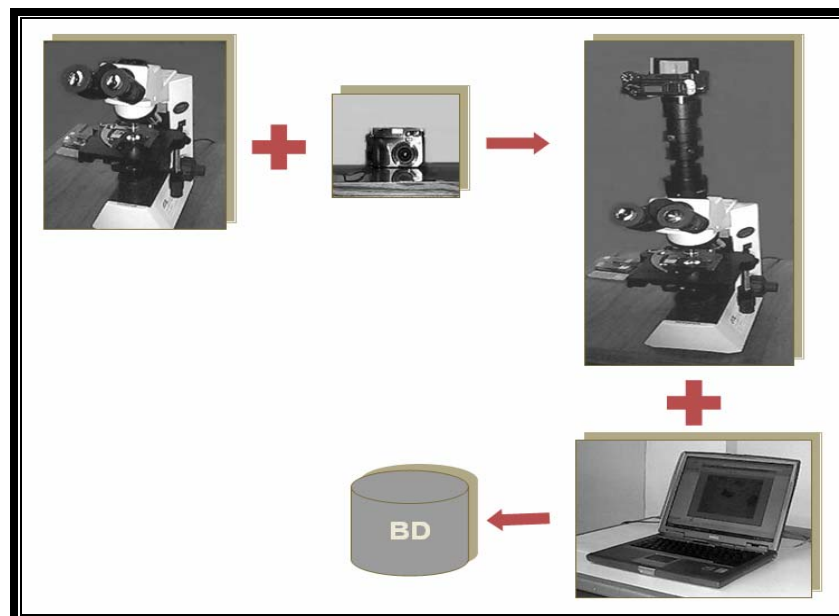


Figura 19. Materiales y Métodos para la adquisición de Imagen

5. PREPROCESAMIENTO

Realizada la etapa de adquisición, el siguiente paso fue el preprocesamiento o filtrado de la imagen. Se optó por la implementación de un algoritmo de filtrado opcional de acuerdo al criterio particular, dependiendo de la notoriedad de los rasgos a estudiar en las células y la cantidad de ruido existente en ellas. Para el caso específico de las muestras logradas no se hizo necesaria la aplicación de filtro ya que son imágenes claras en las cuales podría perderse información como texturas y bordes; sin embargo, no se descarta ésta opción para muestras futuras.

Las opciones de filtrado que se escogieron se encuentran implementadas en Matlab y son:

- Mediana: Este filtro sustituye el nivel de gris de cada pixel por el valor mediano de los pixeles vecinos. Este filtro no posee una matriz de coeficientes definida. El funcionamiento depende del número de filas y columnas utilizadas. (Figura 20).

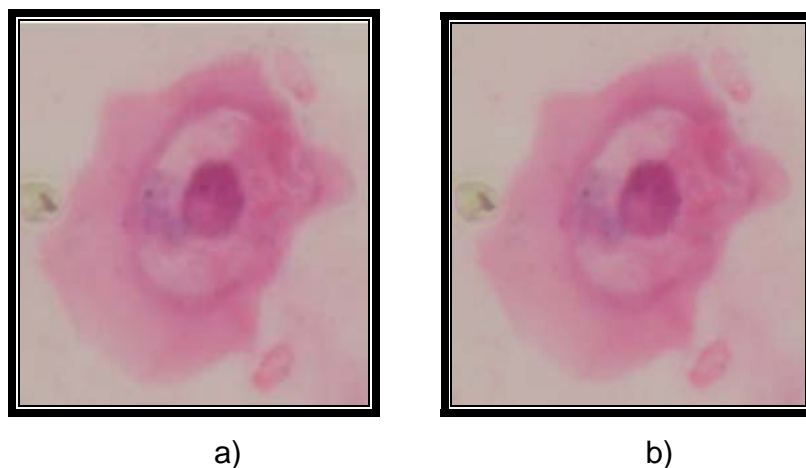


Figura 20. Filtro Mediana. a) Imagen Original. b) Imagen con Filtro Mediana

- Promedio: devuelve un filtro que hace un promedio del tamaño señalado n , que puede ser un vector que especifica el número de filas y de columnas, o puede ser un escalar. El valor por defecto de n en Matlab es una matriz 3×3 . (Figura 21).

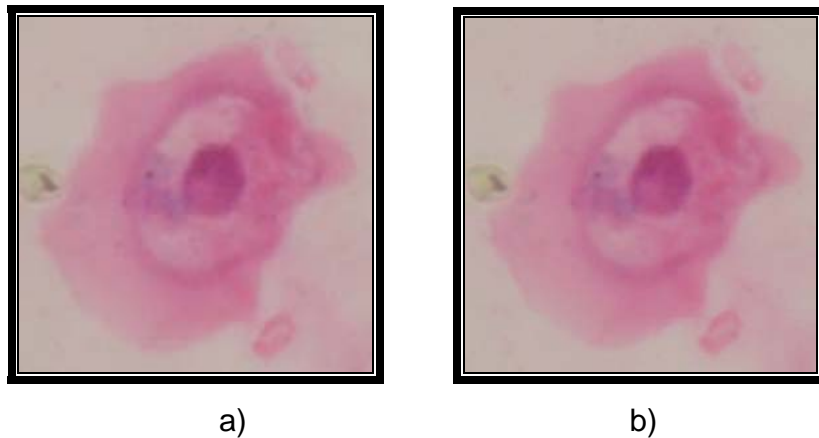


Figura 21. Filtro Promedio. a) Imagen Original. b) Imagen con Filtro Promedio.

- Promedio circular: devuelve un filtro que hace un promedio circular dentro de la matriz cuadrada del lado $2 * \text{radio} + 1$ dándole más importancia al píxel central. El radio del defecto es 5. (Figura 22).

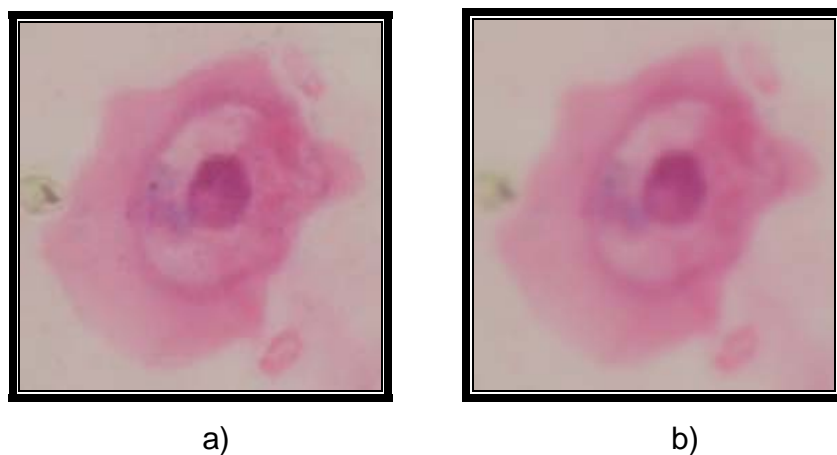


Figura 22. Filtro Promedio circular. a) Imagen Original. b) Imagen con Filtro Promedio Circular

- Gaussiano: filtro gaussiano rotacional simétrico paso-bajo de tamaño n , puede ser un vector que especifica el número de filas y columnas o un escalar, desviación estándar sigma. El valor por defecto de n es 3×3 y el de sigma es 0.5. (Figura 23).

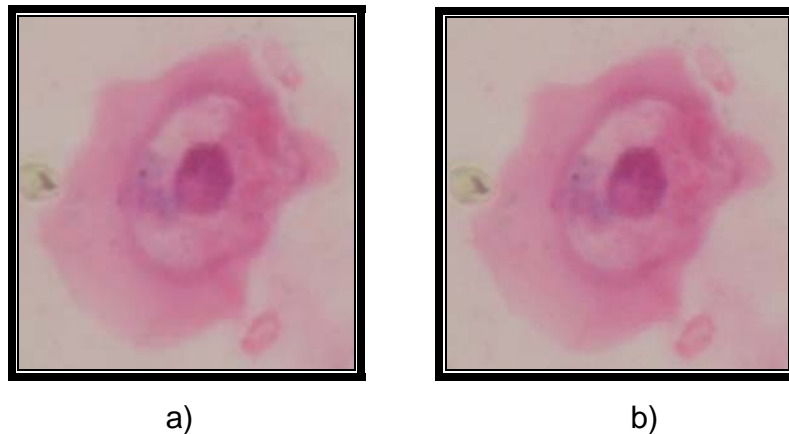


Figura 23. Filtro Gaussiano. A) Imagen Original. b) Imagen con filtro Gaussiano

- Rotacional: devuelve un filtro que cuando se aplica a una imagen, crea sensación de movimiento (de la cámara con respecto a la imagen) de n píxeles. La dirección del movimiento viene dada por un ángulo theta. (Figura 24).

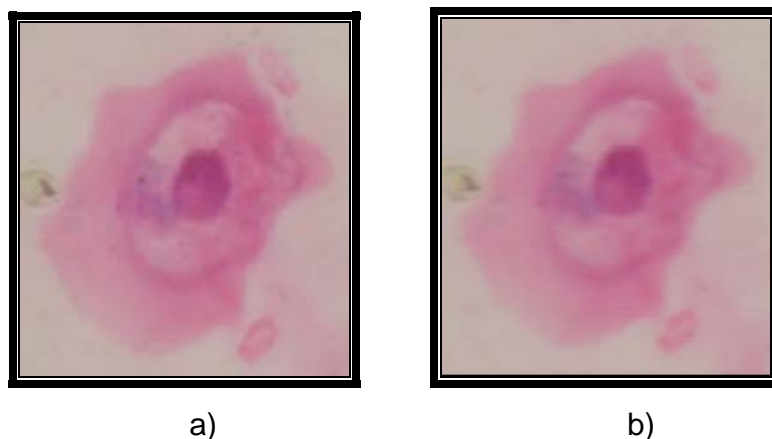
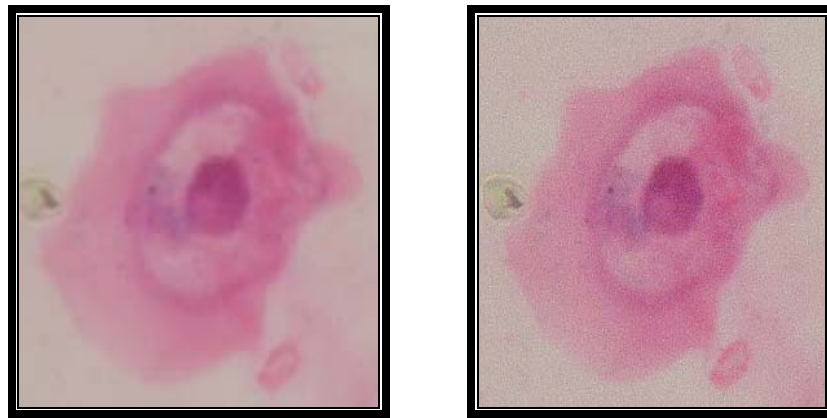


Figura 24. Filtro Rotacional. a) Imagen Original. b) Imagen con Filtro Rotacional

- Unsharp: devuelve un filtro de realce de contraste de tamaño 3×3 . Utiliza el negativo del filtro Laplaciano con parámetro alfa que controla la forma de éste y que debe ser un valor entre 0 y 1. El valor por defecto es 0.2. (Figura 25).



a)

b)

Figura 25. Filtro Unsharp. a) Imagen Original. b) Imagen con Filtro Unsharp.

6. TRANSFORMACIÓN DEL ESPACIO DE COLOR

Previo al desarrollo de los algoritmos de segmentación y posterior al proceso de adquisición se buscó transformar el espacio de color RGB a otros espacios. Estas transformaciones no corresponden a una etapa del procesamiento de imágenes, pero permiten identificar más fácilmente los objetos de estudio. Para algunos de éstos objetos internamente se realizaron las transformaciones antes de segmentar.

6.1 ESPACIO RGB

El espacio RGB es un espacio de color tridimensional cuyas componentes son el rojo, el verde y el azul situados en tres de sus vértices y sus combinaciones cian, magenta y amarillo se ubican en otros tres vértices. El negro corresponde al origen y el blanco al vértice más alejado del origen, puntos entre los que se localiza la escala de grises. (Figura 26).

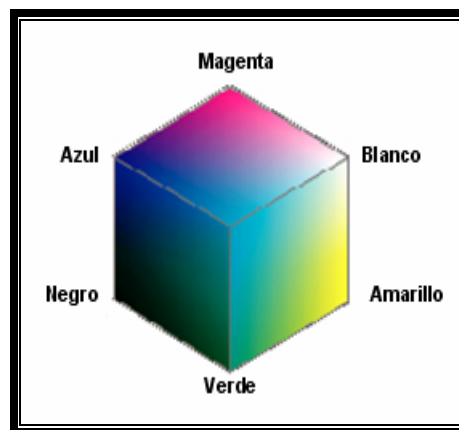


Figura 26. Espacio de color RGB⁴⁵

⁴⁵ Seminario de Imagen y Sonido Digital. El sentido de la vista. <<http://pub.ufasta.edu.ar/SISD/vision/cie.htm> >

6.2 ESPACIO YIQ

Fue diseñado pensando en aprovechar que el sistema visual humano es más sensible a cambios de luminosidad que a cambios de matices (Hue) o cambios de saturación. Su principal ventaja es el desacople entre la información de luminosidad (Y) y la información de color (I y Q), de ésta forma el componente de luminosidad de un imagen puede procesarse sin afectar sus componentes de color. Para realizar la conversión de espacio RGB a espacio YIQ se utilizan las siguientes ecuaciones:

$$Y = 0.30 * R + 0.59 * G + 0.11 * B$$

$$I = 0.60 * R - 0.28 * G - 0.32 * B$$

$$Q = 0.21 * R - 0.52 * G + 0.31 * B$$
⁴⁶

El resultado del cambio de espacio de RGB a YIQ en las imágenes de células se puede observar en la figura 27.

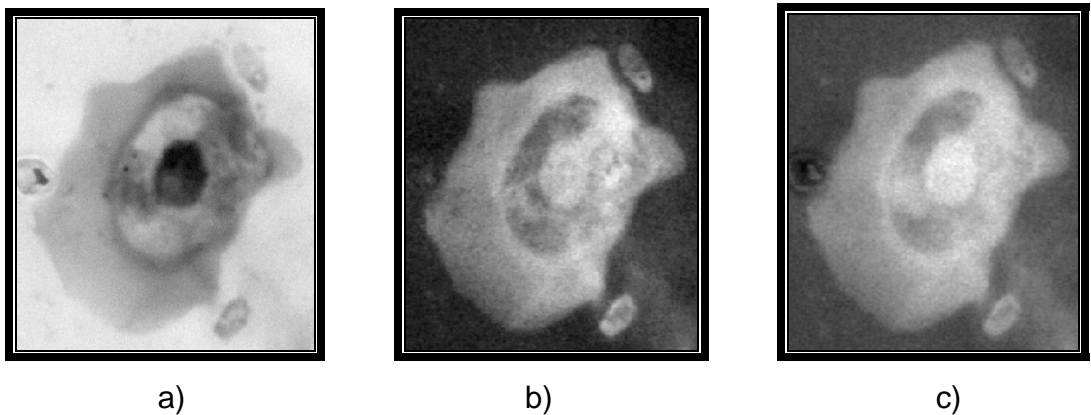


Figura 27. Transformación de RGB a YIQ en células. a) Luminosidad b) y c) Componentes de color I y Q respectivamente.

⁴⁶ PAJARES, Op. cit p.128

6.3 ESPACIO CIELAB (L*a*b)

El espacio CIELAB permite especificar estímulos de color en un espacio tridimensional. El eje L* es el de luminosidad (lightness) y va de 0 (negro) a 100 (blanco). Los otros dos ejes de coordenadas son a* y b*, y representan variación entre rojo-verde, y amarillo-azul, respectivamente. Aquellos casos en los que a* = b* = 0 son acromáticos; por eso el eje L* representa la escala acromática de grises que va de blanco a negro. (Figura 28). Las magnitudes adimensionales de L, a y b se definen de las siguientes ecuaciones.

$$L^* = 116 * \left(\frac{Y}{Y_n} \right)^{1/3} - 16$$

$$a^* = 500 * \left[f \left(\frac{X}{X_n} \right)^{1/3} - \left(\frac{Y}{Y_n} \right)^{1/3} \right]$$

$$b^* = 200 * \left[\left(\frac{Y}{Y_n} \right)^{1/3} - \left(\frac{Z}{Z_n} \right)^{1/3} \right]$$

$$\begin{bmatrix} X \\ Y \\ Z \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0.412453 & 0.357580 & 0.180423 \\ 0.212671 & 0.715160 & 0.072169 \\ 0.019334 & 0.119193 & 0.950227 \end{bmatrix} * \begin{bmatrix} R \\ G \\ B \end{bmatrix}$$

X_n, Y_n y Z_n se obtienen por sustitución de los puntos $[R,G;B] = [1,1,1]$ ⁴⁷

⁴⁷ HANBURY, Alan. and SERRA, Jean. Mathematical morphology in the L*a*b* colour space. 30 August 2001, some corrections made 25 October 2002. Available from World Wide Web: <http://www.prip.tuwien.ac.at/~hanbury/MM_Lab_space.pdf >

El conjunto a^* , b^* recibe el nombre de cromaticidad y junto con la claridad definen el color de un estímulo. La cromatina C^* y el matiz h^* pueden definirse a partir del espacio $L^*a^*b^*$.

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad h^* = \arctg\left(\frac{b^*}{a^*}\right)$$

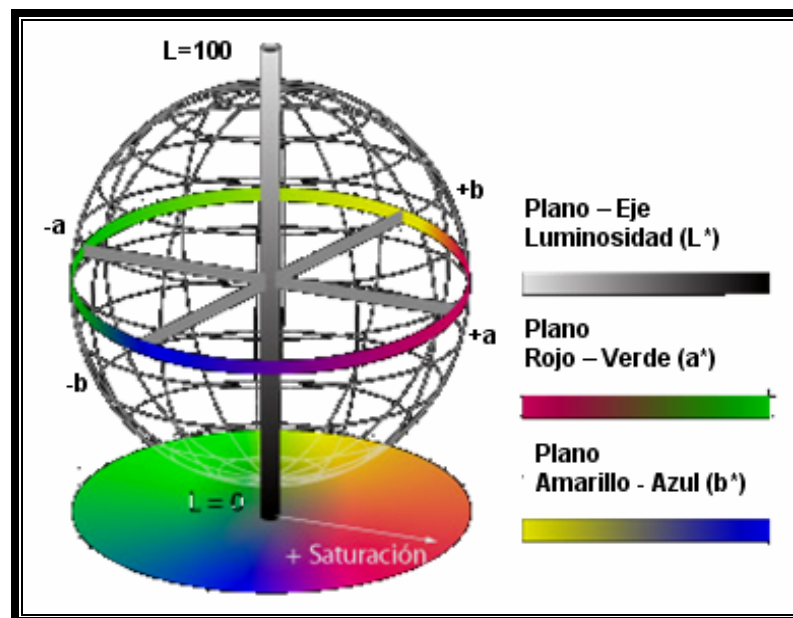


Figura 28. Espacio de color CIELAB⁴⁸

La figura 29 expone la transformación del espacio de color RGB a CIELAB en una de las imágenes obtenidas.

⁴⁸ WESTLAND, Stephen. Qué es el espacio de color CIE $L^*a^*b^*$, 2001. Available from World Wide Web: <<http://www.gusgsm.com/faqcolor/cielab.html>>

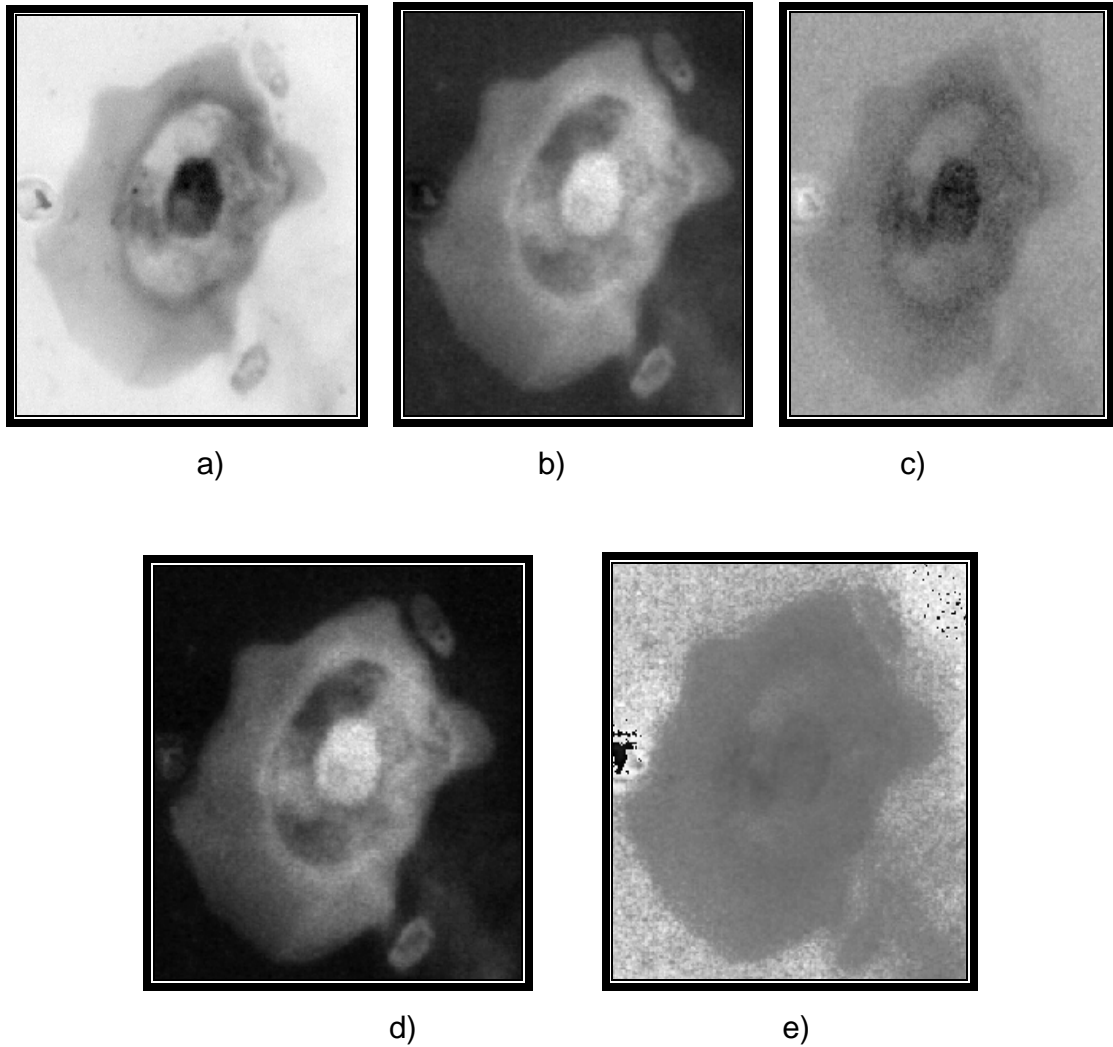


Figura 29. Transformación de RGB a CIELAB en células a) Luminosidad b) variación rojo-verde (a^*) c) variación amarillo-azul (b^*) d) cromatina (C^*) e) matiz (h^*).

6.4 ESPACIO HLS

El espacio HSL (matiz, saturación y luminancia), o HSV (matiz, saturación y valor), HCL, HSI (matiz, saturación e intensidad), HSB (matiz, saturación y brillo), como también se le conoce, es una buena herramienta para desarrollar algoritmos de procesamiento de imágenes basadas en alguna propiedad del sentido de

percepción del color del ser humano. La mayoría de estos espacios son transformaciones lineales de RGB. (Figura 30).

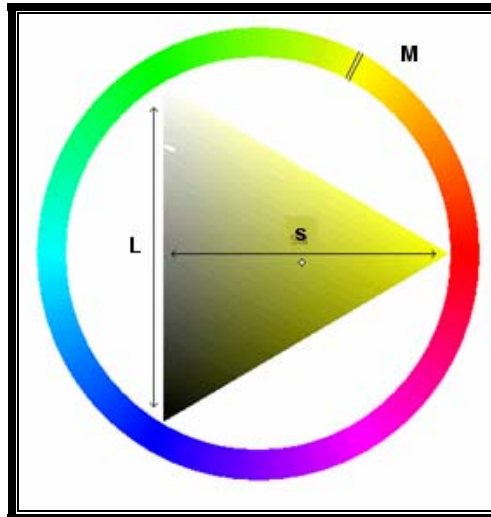


Figura 30. Espacio de color HLS

El matiz describe la posición en el espectro donde se encuentra el color, con rojo en el extremo inferior del espectro y violeta en el extremo superior. Este número puede ser tanto un valor de 8 bits (un número entre 0 y 255), un porcentaje (entre 0 y 100) o un número entre 0 y 359 (que represente los grados en un círculo de colores). La saturación describe el brillo del color, entre gris en el extremo inferior y muy claro en el extremo superior. Este número puede ser un valor de 8 bits o un porcentaje. La luminancia (intensidad o claridad) describe el lugar de la escala entre blanco y negro donde se encuentra el color.⁴⁹

⁴⁹ Tratamiento Digital de Imágenes. Curso interactivo. Coordenadas del Color. Modelos de Color. Capítulo 6. Available from World Wide Web: <http://campusvirtual.uma.es/tdi/www_netscape/TEMAS/Tdi_02/index4.php#6.6%20Modelo%20HSI>

La representación gráfica de estas tres propiedades genera un espacio en forma de doble cono invertido. (Figura 31).

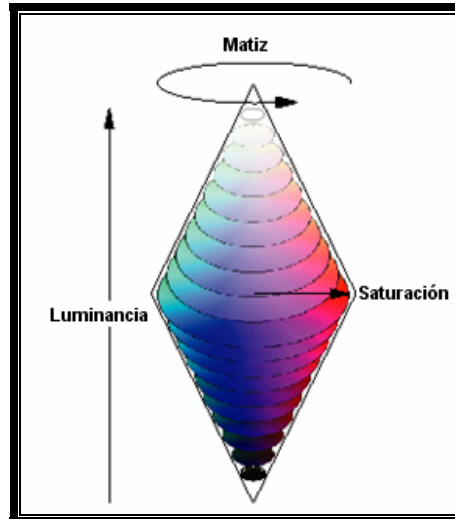


Figura 31. Representación gráfica de las propiedades del HLS

Las magnitudes de H, L y S se definen de las siguientes ecuaciones.⁵⁰

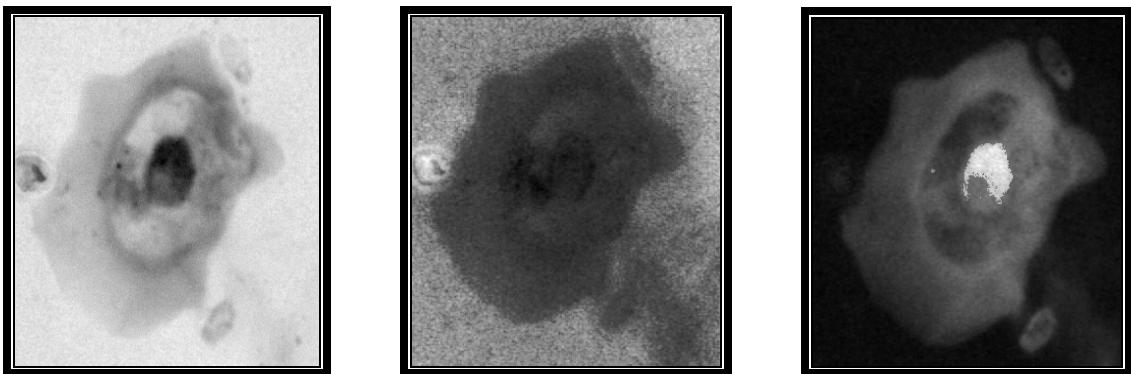
$$H = \begin{cases} \frac{R - G}{\max(R, G, B) - \min(R, G, B)} + 4 & \text{Si } B = \max(R, G, B) \\ \frac{B - R}{\max(R, G, B) - \min(R, G, B)} + 2 & \text{Si } G = \max(R, G, B) \\ \frac{G - B}{\max(R, G, B) - \min(R, G, B)} & \text{Si } R = \max(R, G, B) \end{cases}$$

⁵⁰ ANGULO Jesús; and SERRA Jean. Segmentación de Imágenes en Color utilizando Histograms Bi-Variables en Espacios Color Polares Luminancia/Saturación/Matiz [Image Color Segmentation using Bi-variate Histograms in Luminance/Saturation/Hue Polar Color Space]. Centre de Morphologie Mathématique, Ecole des Mines de Paris 35, rue Saint-Honoré, 77305 Fontainebleau, Francia. Recibido en mayo 20,2003; aceptado en marzo 25, 2005. <<http://www.ejournal.unam.mx/compuysistemas/vol08-04/CYS08405.pdf>>

$$L = \frac{\max(R, G, B) + \min(R, G, B)}{2}$$

$$S = \begin{cases} \frac{\max(R, G, B) - \min(R, G, B)}{2 - \max(R, G, B) - \min(R, G, B)} & \text{Si } L > 0.5 \\ \frac{\max(R, G, B) - \min(R, G, B)}{\max(R, G, B) + \min(R, G, B)} & \text{Si } L \leq 0.5 \end{cases}$$

A continuación se presenta la transformación de RGB al espacio HLS. (Figura 32).



a)

b)

c)

Figura 32. Transformación de RGB a HLS en células a) Luminancia. b) Matiz. c) Saturación.

7. 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.

Las células utilizadas presentan tres objetos citoplasma, núcleo y halo, diferentes a la vista, que precisan ser segmentados con el fin de obtener características individuales y sus respectivas relaciones.

Se presentan métodos de segmentación aplicados a los objetos de la imagen: automático para el núcleo y citoplasma, y manual con escogencia total de la característica, único para la obtención del halo, y opcional para núcleo y citoplasma.

7.1 SEGMENTACIÓN 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 mencionado en el capítulo 7, conforme a la ventaja ofrecida para determinada muestra a juicio del observador.
- Obtención del citoplasma mediante una de las componentes del algoritmo elegido, siendo la saturación para el HLS, la componente de color I para el YIQ y la cromatina para el CIELAB.

- Umbralización a partir de un valor obtenido como salida de una red neuronal.
- Aplicación de morfología matemática.

7.1.1 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.

La obtención del umbral se basó en el uso de una red neuronal para cada uno de los métodos automáticos, con nueve entradas que pertenecen los niveles máximo, medio y mínimo de cada plano de color (RGB) de la imagen y su valor salida representa el punto desde el cual se hizo la binarización y consecuente separación del fondo y citoplasma. (Figura 33b). Se empleó arquitectura feed-forward-backpropagation, 30 células, 100 épocas de entrenamiento, capa de entrada, capa de salida y dos capas ocultas con 3, 3 y 1 neuronas respectivamente. (Figura 34)

El umbral o salida de la red es efectivo para muchas de las células, independiente de la opción de transformación de color escogida al en el paso anterior, no obstante se propuso un método manual con el cual se facilite al usuario el ajuste de dicha magnitud.

Los resultados del comportamiento de la red para la segmentación automática del citoplasma se reportan en el capítulo de resultados.

7.1.2 Morfología matemática

Apelando a las diversas aplicaciones de la morfología matemática en la segmentación, se estableció una serie de instrucciones que permitieron la separación del citoplasma.

- Etiquetado de la imagen: empleado para dividir la imagen en regiones y poder determinar propiedades de ellas, detecta cuantos elementos hay y los etiqueta con un número para diferenciarlos, asigna los números de izquierda a derecha y de arriba abajo.
- Área de cada región: tomando las regiones etiquetadas se calcula el área y se selecciona el objeto correspondiente a la etiqueta que presenta mayor área.
- Relleno de huecos: llena los agujeros dentro de la mayor área dando una apariencia de homogeneidad. Se entiende por agujero o hueco un conjunto de pixeles del fondo que no pueden ser alcanzados completando el borde de la imagen. (Figura 33c).
- Suavizado: aplicando operaciones morfológicas con elemento estructurante disco de tamaño 3 se dio a la imagen un aspecto más liso en su frontera que permitiera una mejor aproximación al borde. La dilatación fue el procedimiento de la morfología matemática que ofreció resultados respecto a lo esperado. (Figura 33d).

- Extracción del borde: se determina el perímetro del área, que regresa una imagen donde están contenidos solo los pixeles pertenecientes al borde de ésta. (Figura 33e).

Para el proceso anterior se hizo uso de algunas instrucciones implementadas en la Herramienta Matlab.

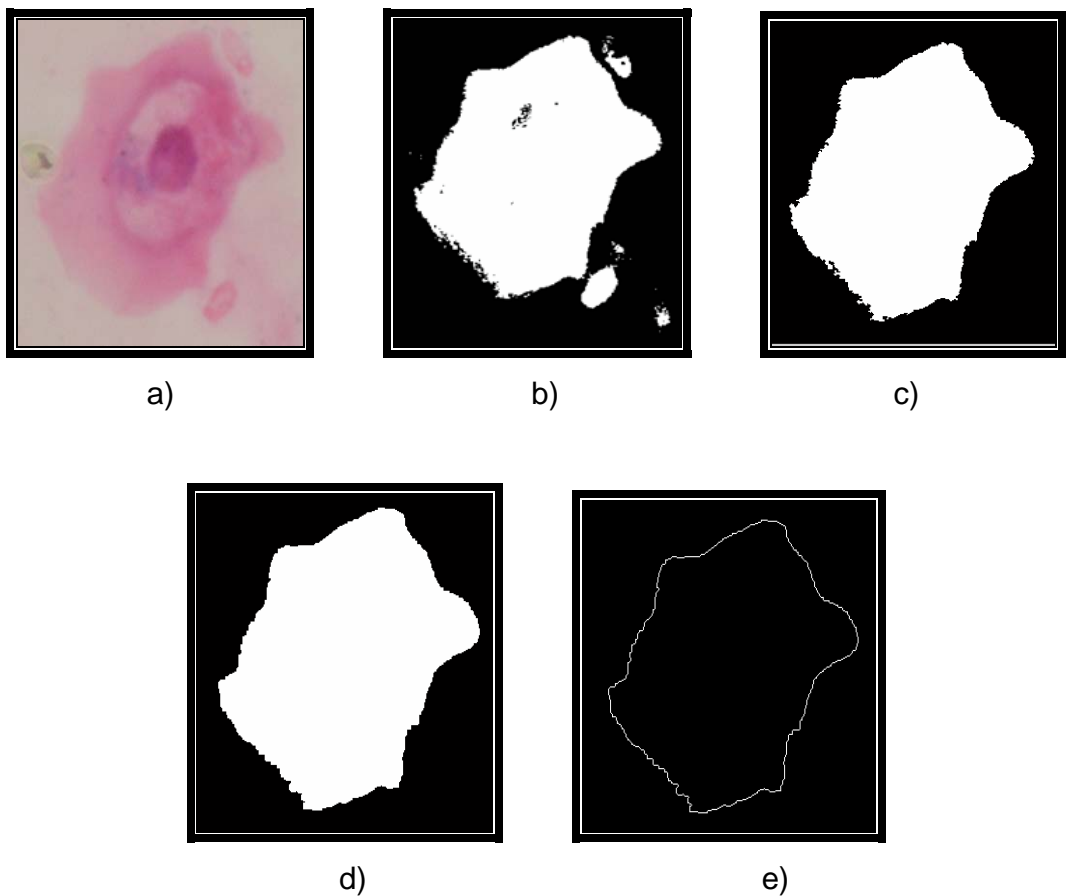


Figura 33. Segmentación del Citoplasma a) Imagen original b) Umbralización c) Área mayor y relleno de huecos. d) Suavizado. e) Extracción del borde.

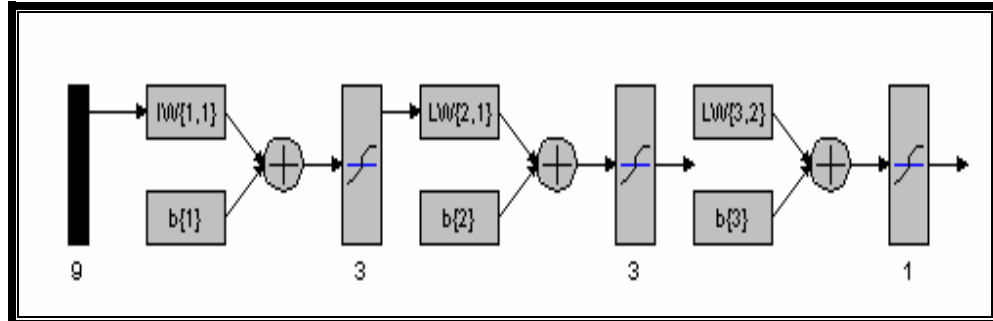


Figura 34 Diseño de red neuronal para la selección del umbral en los métodos automáticos de segmentación del citoplasma.

7.2 SEGMENTACIÓN DEL NÚCLEO

Se proponen dos opciones para separación del núcleo, la primera apoyada en la transformación del espacio de color HLS y la segunda en umbralización, método propio de la herramienta encargado de seleccionar un rango de intensidades de gris en una imagen.

Para la aplicación del algoritmo HLS es umbralizada la componente de saturación, que usa como parámetro de evaluación la luminancia modificada con anterioridad, dependiendo de una cuantificación arrojada por la red neuronal. La construcción de esta se basó en la arquitectura feed-forwardbackpropagation, entrenada con 45 valores, en 100 épocas, con capa de entrada, capa de salida y dos capas ocultas con 1,3, y 3 neurona respectivamente. (Figura 35).

En el capítulo de resultados se puede observar las salidas arrojadas en la evaluación de la red en el proceso de segmentación automática del núcleo.

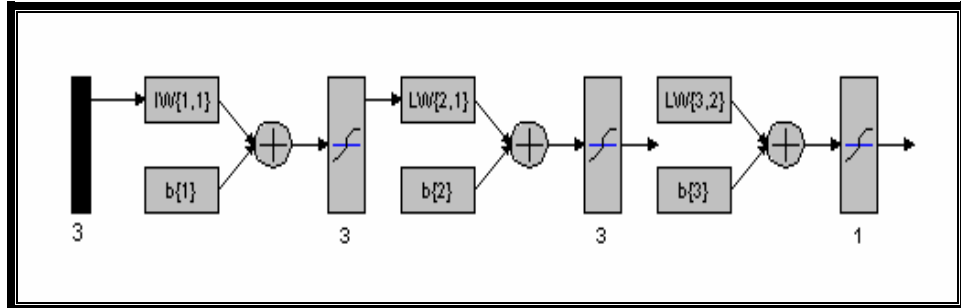


Figura 35. Diseño de red neuronal para la selección del umbral en los métodos automáticos de segmentación del núcleo

A partir de la umbralización, se continuó con el proceso de morfología matemática propuesto para el citoplasma; resultados que pueden apreciarse en la figura 36.

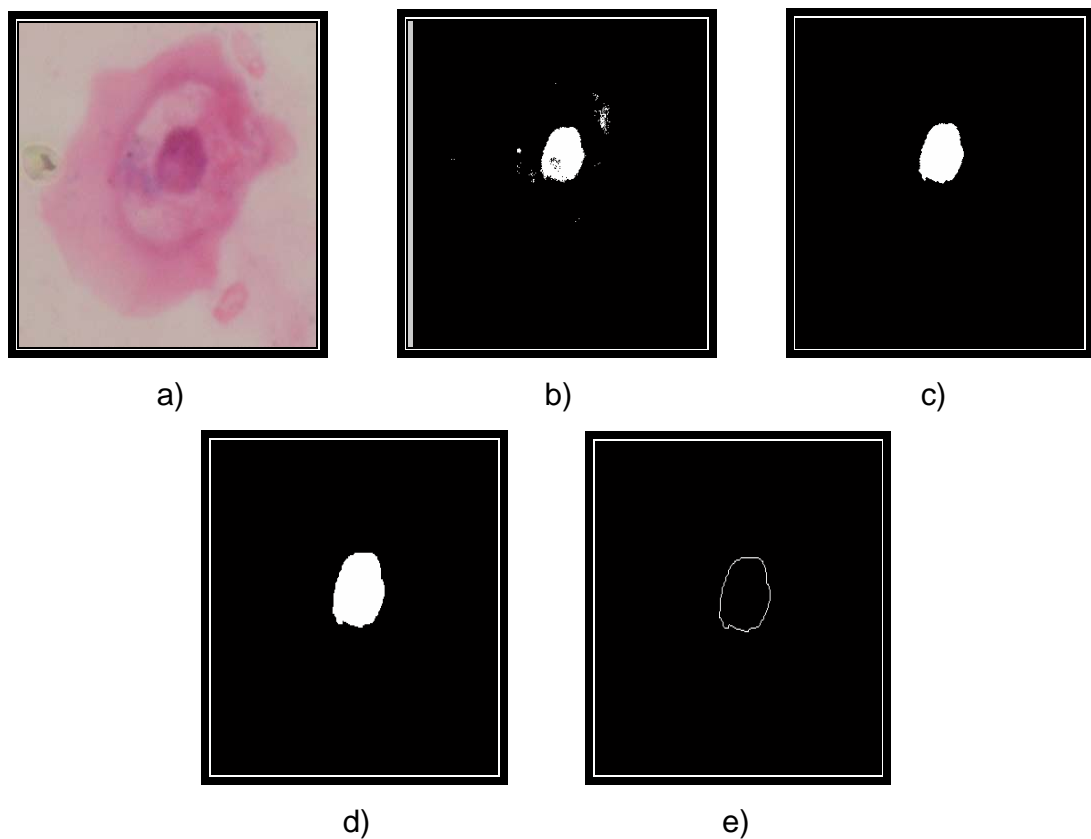


Figura 36. Segmentación del Núcleo a) Imagen original b) Umbralización c) Área mayor y relleno de huecos. d) Suavizado. e) Extracción del borde.

7.3 SEGMENTACIÓN DEL HALO

Dentro del extendido citológico pueden encontrarse células que no revelen presencia visible de halo, pero que las propiedades de núcleo o citoplasma no se encuentren dentro de los rangos de normalidad, por lo tanto a decisión del usuario se realiza la segmentación del mismo.

En la separación del halo perinuclear surgieron dificultades asociadas a características visuales para la distinción, como delimitación insuficiente, presencia de células dobladas, escasa diferencia en algunas regiones entre halo y citoplasma, extensa cobertura del halo comprendiendo gran parte del citoplasma dando apariencia de célula rota, en consecuencia se desistió del uso de métodos de umbralización y crecimiento de regiones, optándose por el método de selección manual por presentar mayor precisión y mejores resultados para el análisis del área.

Con el este método el usuario delimita mediante puntos el área que representa el borde del halo, selección que toma la forma del polígono que mejor se ajusta. (Figura 37).

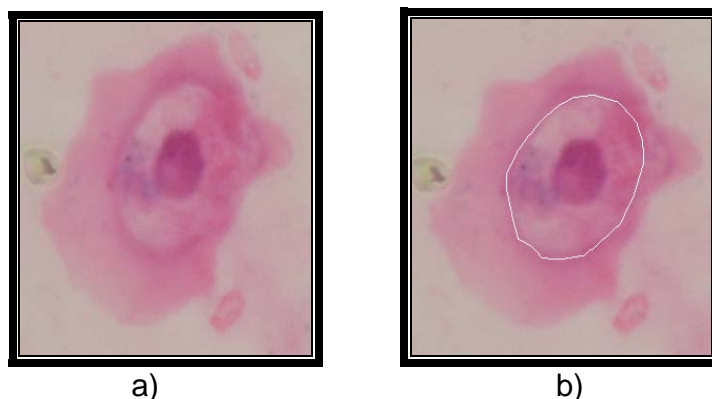


Figura 37. Segmentación del Halo a) Imagen original b) Halo seleccionado

8. DESCRIPCIÓN

Una vez efectuada la segmentación de los tres objetos, se buscaron las características que los describían para señalar o descartar la presencia del virus en la célula en la etapa de reconocimiento.

8.1 DESCRIPTORES DEL CITOPLASMA Y DEL HALO

Teniendo en cuenta los aspectos más relevantes en la caracterización de la enfermedad en una célula, se consideró tanto para el halo como para el citoplasma descriptores tales como:

- Área
- Perímetro
- Ejes mayor y menor, empleados para la comparación halo-citoplasma

Las regiones que describen los dos objetos generalmente tienen contornos poco regulares, por lo tanto se recurrió a promediar los ejes mayor y menor de cada uno, para obtener un dato más aproximado al momento de compararlo.

$$\frac{H}{C} = \frac{\frac{(\text{Eje_mayor_H} + \text{Eje_menor_H})}{2}}{\frac{(\text{Eje_mayor_C} + \text{Eje_menor_C})}{2}}$$

8.2 DESCRIPTORES DEL NÚCLEO

Haciendo énfasis en la distribución del color, forma, tamaño y cantidad de núcleos, se nombran en seguida los parámetros usados para su descripción:

8.2.1 Circularidad

Para el análisis de la redondez y compacidad de un núcleo se usaron tres parámetros, área, perímetro y longitud del eje mayor y sus respectivas relaciones de la siguiente manera:⁵¹

$$\text{Redondez} = \frac{\text{área}}{\text{eje_mayor}^2}$$

$$\text{Compacidad} = \frac{\text{perímetro}^2}{\text{área}}$$

8.2.2 Regularidad

Hace referencia a cambios bruscos indicando hendeduras en el borde, es decir, un núcleo es más regular entre menos incisiones tenga. (Figura 38).

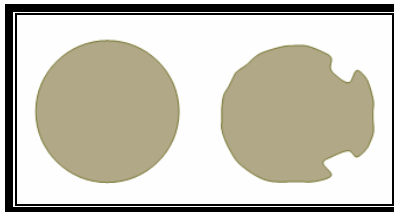


Figura 38. Objeto regular e irregular respectivamente.

Para encontrar esta característica se tiene en cuenta el ajuste a curvas de un objeto determinado, para este caso, el núcleo celular, del cual se toma su borde o

⁵¹MERY, Domingo. Extracción de Características. Departamento de Ciencia de la Computación. Universidad Católica de Chile.<<http://www.ing.puc.cl/~dmery>>

perímetro, comparándolo con diferentes elipses, en determinados casos círculos. El algoritmo se basa en el esquema descrito a continuación:

$$\frac{(x-x_c)^2}{a^2} + \frac{(y-y_c)^2}{b^2} = 1$$

Donde el punto (x_c, y_c) es el centro de la figura (Figura 39)

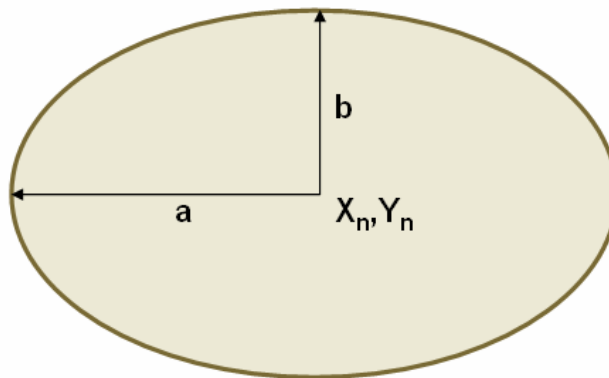


Figura 39 Cálculo de la Regularidad

La regularidad se mide calculando el valor RMS de la distancia de cada punto a la posición que debería tener según elipse ideal (RMS = índice de ajuste de curvas).

$$\text{RMS} = \frac{\sum (Y_{\text{teórico}i} - Y_{\text{real}i})^2}{n}$$

$Y_{\text{teórico}}$: Calculado según la función del núcleo ideal (elipse, círculo)

Y_{real} : representa el valor de la coordenada Y original.

8.2.3 Coloración

Partiendo de una imagen que solo contiene el núcleo, se extrajeron características de color en cada plano del espacio RGB tales como valor máximo, mínimo, moda y promedio que se usan para establecer un rango de intensidades para la diferenciación entre núcleos sanos y con la patología.

8.2.4 Textura

Las características de textura proporcionan información espacial de la imagen obtenida a través de la matriz de co-ocurrencia encargada de medir la cantidad de píxeles que se encuentran a una determinada distancia y orientación, y tienen el mismo nivel de gris.

En el caso particular del proyecto, se ensayó con todas las direcciones posibles, arrojando mejores resultados para una ubicación de píxeles vecinos a 45° y a distancia de 1. El tamaño de la matriz de co-ocurrencia utilizado fue de $256 * 256$ ya que se tomaron niveles de gris desde 0 a 255.

Obtenida la matriz se realizó una estandarización que permitiera trabajar los estadísticos tales como media, varianza, desviación estándar, correlación, entropía, uniformidad o energía, homogeneidad, máxima probabilidad, contraste y disimilaridad.

8.2.4.1 Media: la media en la matriz de concurrencia no es sencillamente el promedio de los valores originales de los niveles de gris en la ventana, ya que es ponderado por la frecuencia de su co-ocurrencia en combinación de un determinado valor del pixel vecino.

$$\sum \sum i c_{ij}$$

8.2.4.2 *Varianza*: esta medida se basa en la media y la dispersión alrededor de la media de los valores de las celdas de la matriz de co-ocurrencia. Como la varianza utiliza específicamente la combinación entre los píxeles de referencia y vecino, no es la misma que la varianza de los niveles de grises de la imagen original.

$$\sigma_i^2 = \sum \sum (i - \mu_i)^2 c_{ij}$$

$$\sigma_j^2 = \sum \sum (j - \mu_j)^2 c_{ij}$$

8.2.4.3 *Desviación Estándar*: es la desviación estándar de los niveles de grises en la ventana. Es alta cuando la desviación estándar en los niveles de grises dentro de la ventana es también alta.

$$\sigma_i = \sqrt{\sigma_i^2} \qquad \sigma_j = \sqrt{\sigma_j^2}$$

8.2.4.4 *Correlación*: el resultado es entre -1 y 1. Como surge de la ecuación esta medida se calcula de una forma diferente a las anteriores medidas, por lo cual la información que suministra es esencialmente distinta, es independiente de las otras medidas. Por lo tanto es esperable que pueda ser usada en combinación con otra medida de textura. Un objeto tiene más alta correlación dentro de él que entre objetos adyacentes y aquellos píxeles cercanos están más correlacionado entre si que los píxeles más distantes

$$\sum \sum C_{ij} \left[\frac{(i - \mu_i)(j - \mu_j)}{\sqrt{(\sigma_i^2)(\sigma_j^2)}} \right]$$

8.2.4.5 *Entropía*: es la medida de la aleatoriedad que alcanza su máximo valor cuando todos los elementos de la matriz son iguales, y su mínimo valor cuando los elementos son cercanos a 0 o 1.

$$- \sum \sum C_{ij} \ln(P_{ij})$$

8.2.4.6 *Uniformidad o energía*: esta medida da valores altos cuando en la matriz de co-ocurrencia tiene pocas entradas de gran magnitud, y es baja cuando todas las entradas son similares. Es una medida de la homogeneidad local.

$$\sum \sum C_{ij}^2$$

8.2.4.7 *Homogeneidad*: la homogeneidad es alta cuando la matriz de concurrencia se concentra a lo largo de la diagonal. Esto ocurre cuando la imagen es localmente homogénea de acuerdo al tamaño de la ventana

$$\sum \sum \frac{C_{ij}}{1 + (i - j)^2}$$

8.2.4.8 *Contraste o Momento de diferencia de orden dos*: es lo opuesto a la homogeneidad, es decir es una medida de la variación local en una imagen. Tiene un valor alto cuando la región dentro de la escala de la ventana tiene un alto contraste.

$$\sum \sum (i - j)^2 c_{ij}$$

8.2.4.9 *Disimilaridad o Momento de diferencia de orden uno*: similar al Contraste, es alta cuando la región tiene un contraste alto.⁵²

$$\sum \sum |i - j| c_{ij}$$

Cada uno de los descriptores de medidas lineales o cuadráticas, se convirtieron a escala de micras, ya que originalmente se encontraban en píxeles, lo que impedía la comparación con medidas establecidas.

La transformación de dimensiones fue aporte del grupo de investigación GIIB al proyecto, mediante el uso de una reglilla con subdivisiones, donde se estableció la cantidad de píxeles contenidos dentro de una casilla de 1 micra de lado. (Figura 40)

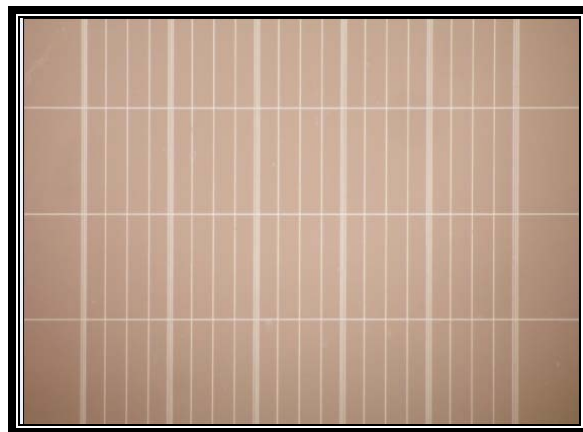


Figura 40. Reglilla de conversión de píxeles a micras

⁵² Reconocimiento de Patrones Espaciales y cambios temporales.
<http://146.83.41.79/profesor/jhp/cart0/Patrones_cambios.pdf>

9. RECONOCIMIENTO

Mediante el uso de las redes neuronales y teniendo como base los parámetros calculados en la etapa de Descripción para las entradas de las mismas, se identifican e interpretan las características propias de cada objeto.

Al igual que en pasos anteriores del procesamiento de imágenes se hace el tratamiento de acuerdo a las partes de la célula.

9.1 CITOPLASMA Y HALO

La citomegalia o aumento en el tamaño del citoplasma, es una de las características asociadas a la infección del VPH y se mide a través de estándares establecidos para las células intermedias. Este estándar corresponde a 50 micras para un citoplasma en su estado normal.

Teniendo en cuenta lo expuesto anteriormente, se hizo uso de los descriptores para la comparación de los ejes mayor y menor del citoplasma con el diámetro de una célula intermedia y así la debida identificación de ésta característica en cada una de las células estudiadas.

Respecto al halo perinuclear, su estándar en la identificación del Virus del Papiloma humano, es ser mayor a $\frac{2}{3}$ partes del citoplasma. Medidas como el radio, se relacionaron entre éstos dos objetos en búsqueda del cumplimiento de ésta proporción determinando si cumple o no con la relación establecida.

9.2 NÚCLEO

Si bien, la existencia del halo perinuclear es una de las características principales para la identificación del VPH en la célula, no es un indicador definitivo de la presencia de ésta patología; por lo tanto, deben ser analizadas características del núcleo que permitan apoyar el diagnóstico médico.

Inicialmente se construyó una red neuronal para identificar parámetros de textura como lo es la distribución no uniforme de la cromatina. Para los valores de entrada, se usó los resultados de los descriptores de textura expuestos en el capítulo 8 extraídos de la prueba de 86 núcleos clasificados como positivos los normales y cero o negativos los anormales. Esta red no arrojó resultados satisfactorios, por lo que se hizo necesario el planteamiento de otras redes mejorando la distribución de los parámetros de entrada.

Por los resultados imprecisos que se obtuvieron, se diseñaron dos redes neuronales. La primera de ellas se empleó para saber si existía variación en la pigmentación del núcleo, ya que muchas de las células presentaban grumos de cromatina pequeños agrupados, que la segunda red no alcanzaba a detectar puesto que daban la apariencia de uniformidad. Esta red utilizó como cuantificaciones de entrada los descriptores de homogeneidad, contraste y disimilaridad, y como salidas, valores positivos para núcleos uniformes. El tipo de red usado fue Feed-Forward-Backpropagation, con cuatro capas y 5 neuronas en total distribuidas así: 1,3,1 en las capas respectivamente; entrenada en 100 épocas con igual número de núcleos que la red propuesta anteriormente.

La segunda red tuvo como propósito conocer acerca del estado de la cromatina dentro del núcleo, es decir si se encontraban grumos en éste. Para esto, se manejaron los descriptores de entropía, varianza (i y j) y desviación estándar (i y j)

en las entradas de la red, y las salidas se consideraron negativas o cero para aquellos núcleos con grumos. El tipo de red fue Cascade-Forward-Backpropagation, con función de transferencia Tansig, capa de entrada, tres capas intermedias con 4, 3 y 2 neuronas respectivamente y una capa de salida con 1 neurona, entrenada en 100 épocas y al igual que la red de uniformidad con 86 núcleos.

Con las dos redes entrenadas se buscó utilizar las salidas y de acuerdo a ellas determinar si la distribución de la cromatina era uniforme. Se realizaron pruebas a 30 de las células, arrojando 29 aciertos y un falso positivo.

En búsqueda del análisis de la Regularidad, como otro criterio de estudio para el núcleo, se usaron las ecuaciones y el proceso nombrado en el capítulo 8, además de la descripción de las células realizada por el patólogo, donde se refería a este parámetro. Al hacer el ajuste de curvas con el contorno del núcleo, arrojaba resultados muy altos para núcleos regulares que se encontraban girados, por lo tanto, se anexó una comparación rotando las coordenadas del núcleo de tal forma que generaran nuevamente las curvas y que se hiciera el ajuste correspondiente.

Con éste análisis se observó que para núcleos muy irregulares los valores que se presentan eran altos, mientras que para aquellos cuyo contorno es regular, al menos una de las curvas se ajustaba con valores pequeños cuyo valor máximo oscilaban alrededor de 4, valor con el cual se hizo la diferenciación.

En la coloración se revisaron los niveles de intensidad de cada plano del área correspondiente al núcleo. Para aquellos que presentaban hiperchromatismo, los valores más repetidos correspondían a intensidades bajas, en cualquiera de los planos y además tenían valores pequeños entre los mínimos. Para esto se determinaron intervalos de clasificación donde si al menos una de las modas

estaba en un nivel entre [0 y 50], esta indicaba núcleos muy oscuros, de forma similar si el nivel mínimo de verde o azul estaba entre [0 y 45].

Respecto al tamaño del núcleo se calcularon los ejes y se hizo la respectiva comparación con el diámetro para células intermedias que se reporta en la literatura al rededor de 8 a 10 micras.

En la caracterización de bi-multinucleación se estudiaron núcleos sueltos dentro de un mismo citoplasma, que presentaban áreas mayores del 80% del área del núcleo; la comprobación de este algoritmo resultó difícil debido a que la muestra con que se contaba no presentaba esta particularidad.

Finalmente, además de las medidas obtenidas, se reúnen los resultados de la interpretación resumiéndolos de tal forma que el usuario tenga la facilidad de emitir un concepto basado en la herramienta. Estos resultados se dan en términos de medicina y permiten ver cuales de los parámetros característicos de la enfermedad están presentes en determinada célula.

10. BASE DE DATOS

CELULA: Registra la ruta donde está almacenada la imagen y la fecha en que fue tomada.

PACIENTE: Agrupa los datos personales correspondientes a cada paciente. Su relación con célula, permite identificar cuales imágenes pertenecen a cada persona.

NUCLEO: Hace referencia a la tabla que contiene las características del núcleo de cada célula. La relación con Citoplasma permite relacionar sus medidas principales como el área.

COLORACION: Se guardan los resultados máximo, mínimo, medio y moda de cada plano RGB correspondiente al núcleo de la célula de estudio.

REGULARIDAD: Abarca los parámetros necesarios para verificar la regularidad del núcleo.

TEXTURA: Contiene todos los parámetros para la identificación de las características del núcleo

CITOPLASMA: Comprende las características principales del citoplasma y sus relaciones con el núcleo y el halo.

HALO: Abarca las medidas propias del halo.

REDUNIFORME: Encierra los parámetros y resultados de la red que determinan la uniformidad de la pigmentación del núcleo.

REDVARIANZA: Contiene las entradas y salida de la red usada para la identificación de la cromatina del núcleo.

La anterior descripción se representa en la figura 41.

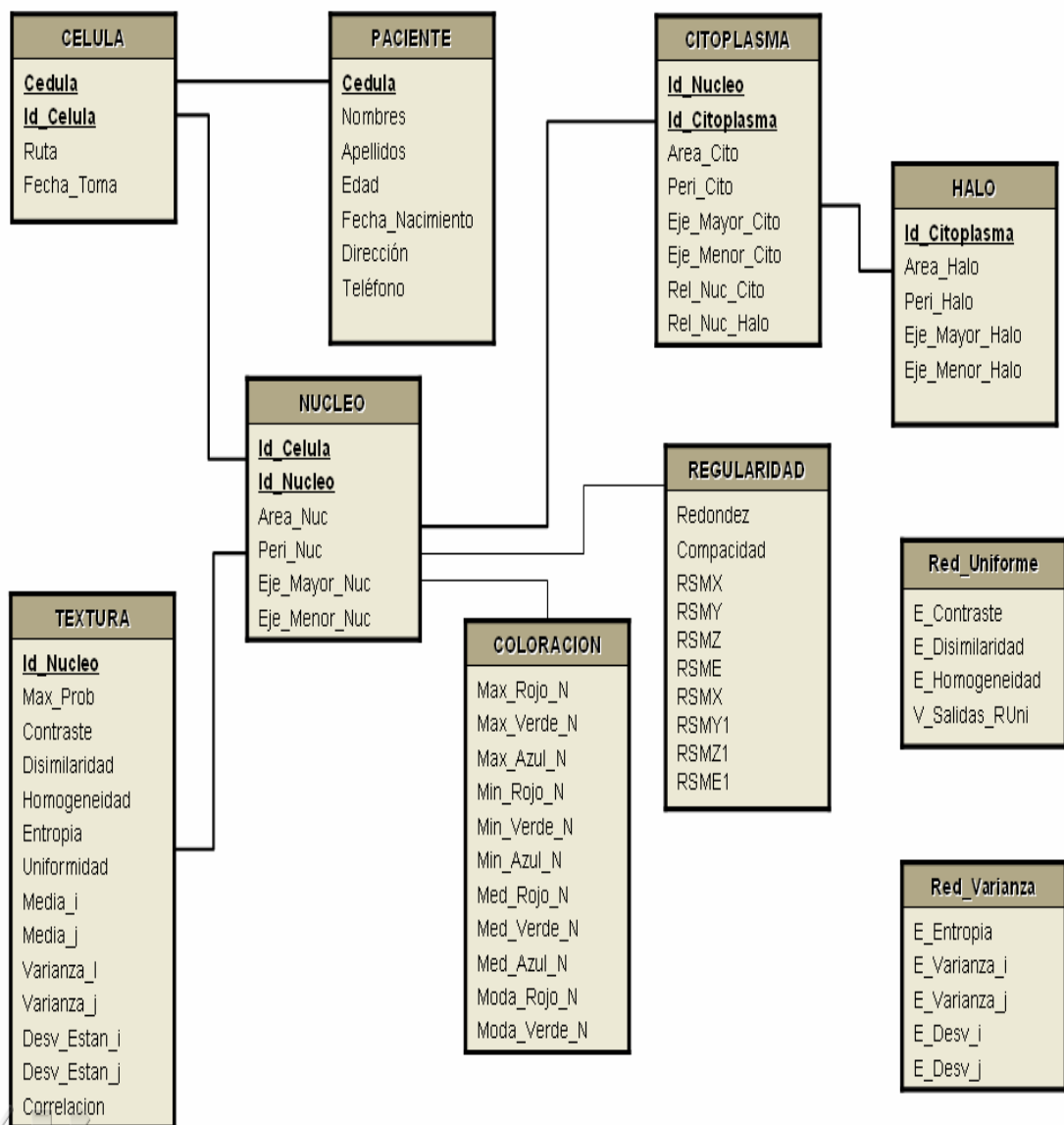


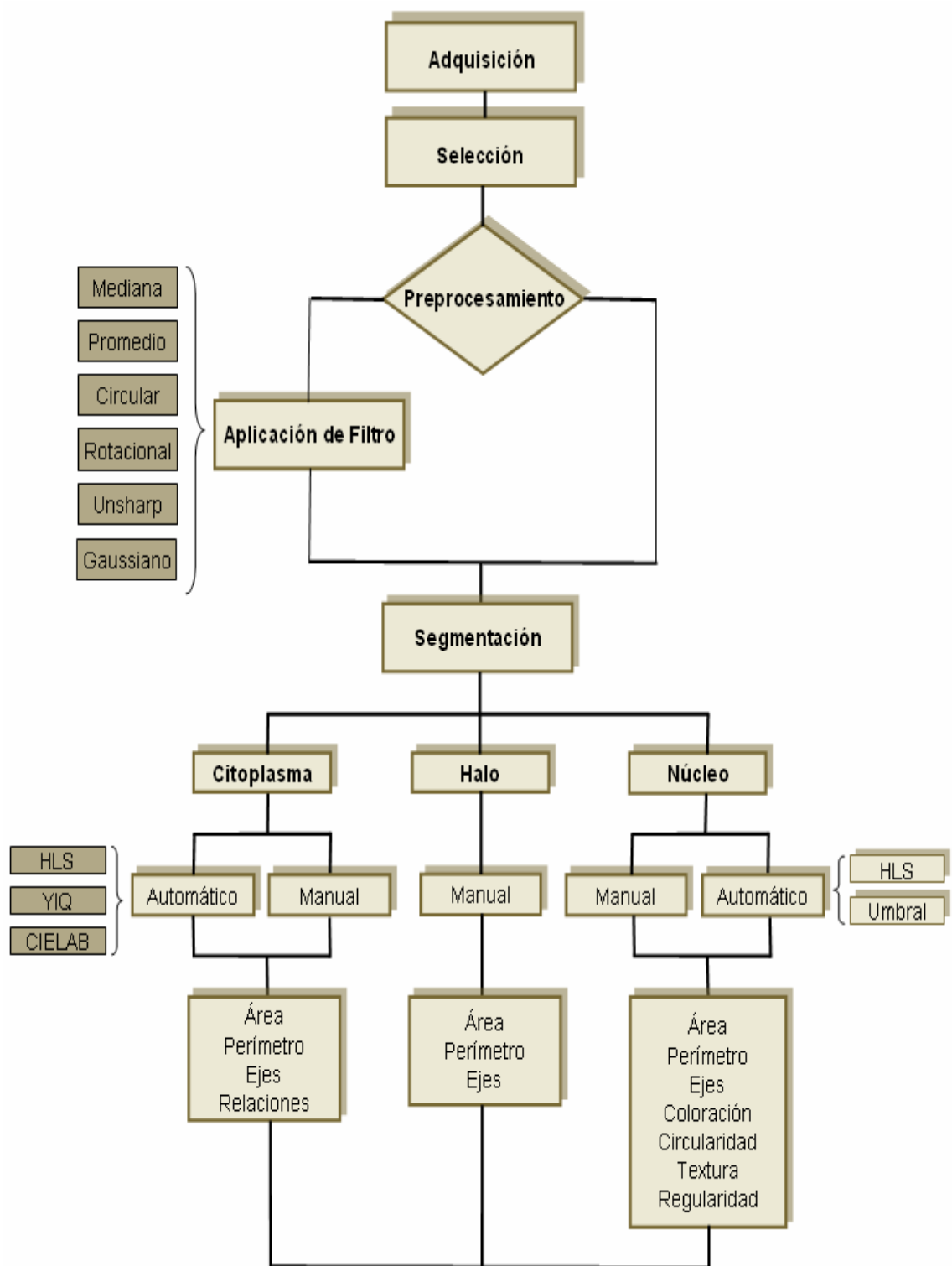
Figura 41. Base de Datos.

11. MODELO COMPUTACIONAL

Este modelo se desarrolló mediante una serie de pasos que fueron acoplados en la obtención de un prototipo software y lograr así la identificación de las características para el diagnóstico del virus del papiloma humano.

De acuerdo al progreso de la herramienta, la siguiente fue la secuencia utilizada para la construcción del modelo, en su respectivo orden: (Figura 42)

- Recolección de muestras y Adquisición de la imagen, etapas explicadas en el capítulo 4.
- Preprocesamiento de la célula seleccionada. En el uso de la herramienta es la fase opcional de acuerdo al criterio del usuario.
- Transformación del Espacio de Color. Las componentes RGB de la imagen se convierten otros espacios, de acuerdo al método escogido.
- Localización y extracción de los objetos presentes en la célula tales como núcleo, citoplasma y halo, obteniendo el borde de cada uno.
- Cálculo de las medidas comunes para los objetos de las células y las propias del núcleo utilizando los descriptores.
- Análisis de los resultados obtenidos en el paso anterior y establecimiento de los rangos de cada característica estudiada con la aplicación de redes neuronales.



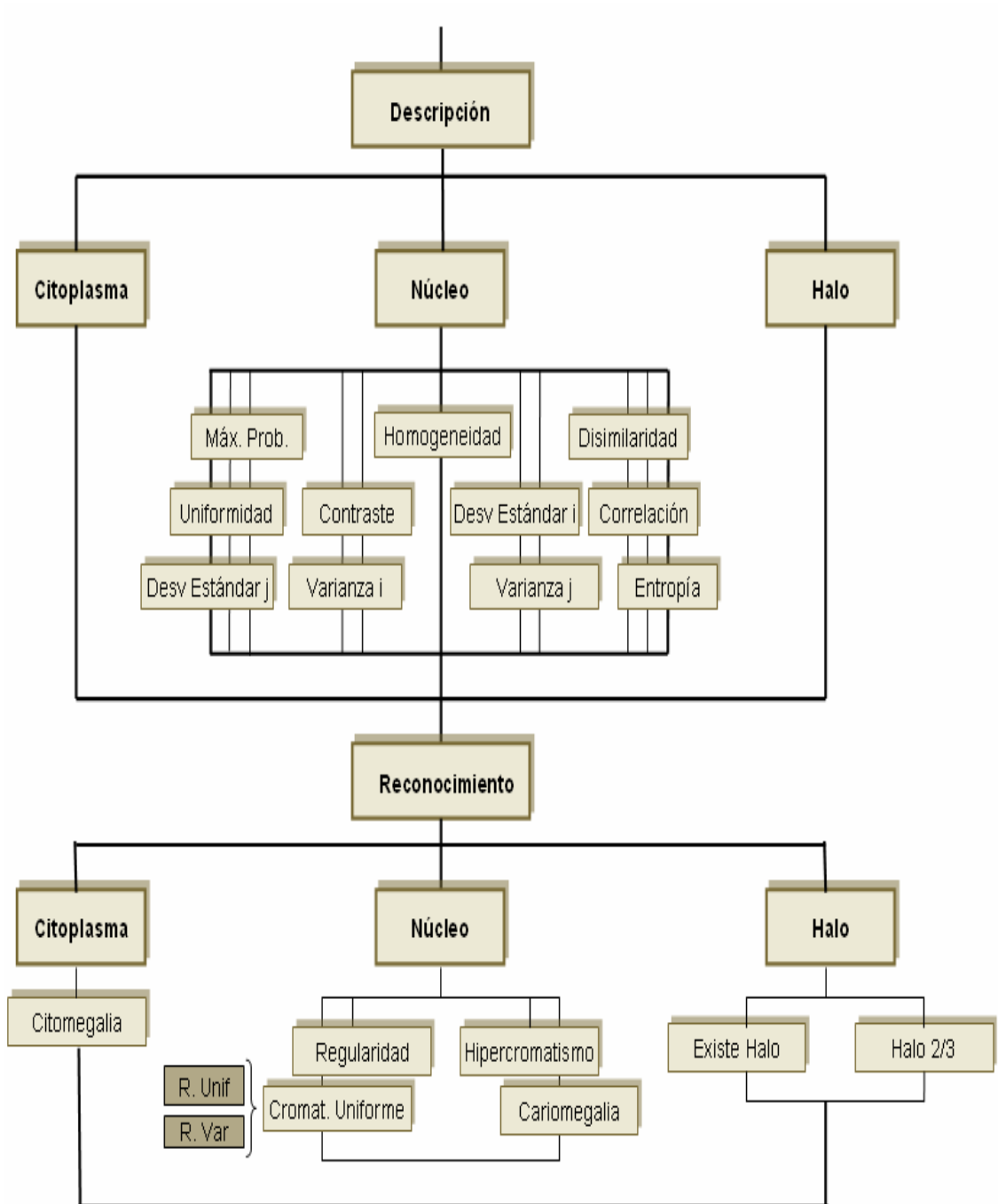


Figura 42. Modelo computacional

12. RESULTADOS

Para cada uno de los métodos exceptuando el manual se realizó la evaluación y comparación entre ellos, midiendo la precisión en la segmentación del citoplasma y la efectividad del entrenamiento de la red. Se estudiaron 30 células escogidas aleatoriamente tanto infectadas como normales, de las cuales se obtuvieron los resultados mostrados en la tabla 7, donde (✓) indica que la segmentación fue satisfactoria y (✗) lo contrario.

CELULA	HLS	CIELAB	YIQ	CELULA	HLS	CIELAB	YIQ
1	✓	✗	✓	16	✓	✓	✓
2	✓	✓	✗	17	✓	✓	✗
3	✓	✓	✗	18	✓	✓	✓
4	✓	✓	✓	19	✓	✓	✓
5	✓	✓	✓	20	✓	✓	✓
6	✗	✓	✗	21	✗	✓	✗
7	✓	✓	✓	22	✓	✓	✓
8	✓	✓	✓	23	✓	✓	✓
9	✓	✓	✗	24	✓	✓	✗
10	✓	✓	✗	25	✓	✗	✓
11	✗	✓	✗	26	✓	✓	✓
12	✓	✓	✗	27	✓	✓	✓
13	✓	✓	✓	28	✓	✓	✓
14	✓	✓	✓	29	✗	✗	✓
15	✓	✗	✓	30	✓	✓	✗

Tabla 7. Evaluación de los métodos de segmentación para el citoplasma

Se compararon para el núcleo los el método por defecto con el HLS, proceso que se encuentra consignado en la tabla 8

CELULA	HLS	OTRO	CELULA	HLS	OTRO
1	✓	✓	16	✓	✗
2	✗	✓	17	✓	✓
3	✓	✗	18	✓	✓
4	✓	✓	19	✓	✗
5	✓	✓	20	✗	✓
6	✓	✗	21	✓	✓
7	✓	✓	22	✓	✓
8	✗	✓	23	✓	✓
9	✓	✓	24	✓	✓
10	✓	✓	25	✗	✓
11	✗	✗	26	✓	✓
12	✓	✓	27	✓	✓
13	✓	✓	28	✓	✓
14	✓	✓	29	✓	✗
15	✓	✓	30	✓	✓

Tabla 8. Contraste de los métodos de segmentación para el núcleo.

En la valoración de los descriptores del núcleo, se trabajó con muestras de 30 imágenes seleccionadas azar, diferentes para cada uno. Los resultados del proceso de evaluación de la efectividad de los mismos se reportan en las siguientes tablas, donde (✓) indica un resultado satisfactorio confrontado con la opinión del médico patólogo, y (✗) en otro caso.

CELULA	H-CR	CELULA	H-CR	CELULA	H-CR
1	✓	11	✓	21	✓
2	✓	12	✓	22	✓
3	✓	13	✗	23	✓
4	✓	14	✓	24	✓
5	✓	15	✓	25	✓
6	✓	16	✓	26	✗
7	✓	17	✓	27	✓
8	✓	18	✓	28	✓
9	✗	19	✓	29	✓
10	✓	20	✓	30	✓

Tabla 9. Evaluación para el método de detección de hiper cromatismo

CELULA	TEX	CELULA	TEX	CELULA	TEX
1	✓	11	✓	21	✓
2	✓	12	✓	22	✓
3	✓	13	✓	23	✓
4	✓	14	✓	24	✓
5	✓	15	✓	25	✓
6	✓	16	✓	26	✓
7	✓	17	✓	27	✓
8	✓	18	✓	28	✓
9	✓	19	✓	29	✓
10	✓	20	✓	30	✓

Tabla 10. Evaluación para el método de análisis de textura.

CELULA	CMEG	CELULA	CMEG	CELULA	CMEG
1	✓	11	✓	21	✓
2	✓	12	✓	22	✓
3	✓	13	✓	23	✓
4	✓	14	✓	24	✓
5	✓	15	✓	25	✓
6	✓	16	✓	26	✓
7	✓	17	✓	27	✓
8	✓	18	✓	28	✓
9	✓	19	✓	29	✓
10	✓	20	✓	30	✓

Tabla 11. Evaluación para el método de análisis de citomegalia.

CELULA	ANUC	CELULA	ANUC	CELULA	ANUC
1	✓	11	✓	21	✓
2	✓	12	✓	22	✓
3	✓	13	✓	23	✓
4	✓	14	✓	24	✓
5	✓	15	✓	25	✓
6	✓	16	✓	26	✓
7	✓	17	✓	27	✓
8	✓	18	✓	28	✓
9	✓	19	✓	29	✓
10	✓	20	✓	30	✓

Tabla 12. Análisis de aumento en el tamaño del núcleo

CELULA	REG	CELULA	REG	CELULA	REG
1	✓	11	✓	21	✓
2	✓	12	✓	22	✓
3	✓	13	✗	23	✓
4	✓	14	✓	24	✓
5	✓	15	✓	25	✓
6	✓	16	✓	26	✗
7	✓	17	✓	27	✓
8	✓	18	✓	28	✓
9	✓	19	✓	29	✓
10	✓	20	✓	30	✓

Tabla 13. Análisis de regularidad del contorno nuclear

En síntesis, de las tablas de datos anteriores se pudo observar que los métodos de segmentación de núcleo y citoplasma tienen un comportamiento muy cercano al esperado gracias a la construcción y correcta implementación de las redes neuronales. El descriptor del núcleo que arrojó algún fallo fue el encargado de valorar el nivel de cromatina, mientras que para los demás el porcentaje de error fue bajo.

Para la bi-multinucleación no se presentan resultados, primordialmente por no encontrar en la muestra representación suficiente de esta característica. Con el método implementado se busco reconocer una de las formas de percibirlo, descartando aquella en que se visualizan traslapados.

13. ANÁLISIS DE RESULTADOS

La integración de la ingeniería y la biociencia ha permitido el desarrollo de técnicas y materiales, representados en calidad de vida para las personas, precisión para el diagnóstico y tiempo, economía y cobertura para la sociedad.

El planteamiento del problema del cáncer cervicouterino como la segunda causa de muerte de la población femenina, con altos índices en países subdesarrollados como Colombia, debería captar al atención no solo de las entidades de salud, sino de la comunidad en general, más aún considerando que esta enfermedad puede ser prevenida con la detección temprana de Virus de Papiloma Humano, mediante programas de tamizaje.

El Grupo de Investigación de Informática Biomédica (GIIB), ha asumido una actitud solidaria en la lucha contra esta afección, aportando conocimiento en la construcción de herramientas informáticas que apoyen la toma de decisiones, convirtiéndose este en el segundo desarrollo que se realiza para tal fin, posterior al proyecto de clasificación normal – displásica de las células escamosas de citologías cervicouterinas.

Este prototipo software asistido se construyó para caracterizar las células escamosas presentes en citologías cervicouterinas con alteraciones asociadas a la lesión de VPH, bajo la supervisión de médicos especialistas, siendo el pionero en el análisis de la patología, no existiendo método para el contraste.

Para establecer los criterios correspondientes a cada uno de los parámetros a evaluar en las células escamosas fue indispensable la adquisición de una muestra

representativa, por medio de equipos que ofrecían imágenes con adecuada resolución, color y calidad.

Con la obtención de los registros fotográficos se buscó mejorar aquellos que presentaran imperfecciones, mediante el uso de seis clases de filtros opcionales puestos a disposición del usuario según criterio personal, utilizando los valores mínimos para evitar eliminación de los patrones de textura.

En la efectividad de los métodos de separación de las partes de la célula se fundamentó el diseño y la construcción de todos los algoritmos que componen el proyecto. La segmentación fue la etapa que absorbió la mayor parte del tiempo puesto que se experimentaron diversas técnicas con diferentes niveles de complejidad algunas de ellas con resultados no satisfactorios. La diferenciación de las partes celulares basada en histogramas no fue óptima debido a que en la distribución de las intensidades de los píxeles no se apreciaban modas; de igual forma para el uso de umbrales, donde a causa de la transformación en niveles de gris, se hizo menos notoria la discriminación de los objetos.

Se acudió al procedimiento de crecimiento de regiones para la extracción del halo, el cual se fundamenta en la ubicación de una semilla y posterior incremento comparado con los vecinos de esta, teniendo como límite una diferencia de intensidad determinado. Esta forma no fue integrada a la herramienta dado que existían partes donde las fronteras del citoplasma y el halo no se hallaban visiblemente definidas

Las transformaciones de RGB a espacios de color muestran los mejores resultados para núcleo y citoplasma, ya que permiten percibir la intensidad o claridad en las imágenes para el reconocimiento de los contornos. Se dio importancia a tres espacios de color, HLS, CIELAB y YIQ, para el citoplasma y

HLS para el núcleo, que mediante las redes neuronales respectivas, binarizaban la imagen separando las partes y preparándola para la aplicación de la morfología matemática.

En la extracción del núcleo, se usó una función propia de matlab, que al igual que las transformaciones de color, basa su comportamiento en la salida de la red neuronal y continua su proceso con la morfología matemática aprovechando la dilatación, el relleno de huecos y las propiedades de las regiones como área y perímetro.

El método manual corresponde a la opción más efectiva. Permite al usuario modificar el valor del umbral ajustando la región abarcada por las partes de la célula que a juicio personal considere acertada. Entre tanto, para el halo, si existe, se aprueba realizar un punteo en el perímetro éste.

Se observó al comparar los tres métodos utilizados en el citoplasma que aquel que presento menor número de aciertos en la segmentación fue el YIQ, pese a ser el más rápido en realizar el proceso, mientras que HLS y CIELAB tuvieron igual número de respuestas satisfactorias ocurridos para diferentes células, lo cual permite tener como mínimo una opción efectiva de segmentación diferente al manual.

De los métodos del núcleo, se dedujo igualdad de precisión en los resultados, equivalencia en el tiempo de ejecución y viabilidad de uno de los dos para cualquier imagen.

Siguiendo el estudio de la parte nuclear de la célula, la textura, coloración, regularidad y otros parámetros surgieron como criterio de divergencia en la caracterización del virus. Para la textura, se planteó el uso de estadísticos

aplicado a la parte original de la imagen correspondiente al núcleo, prescindiendo de la forma primaria del proceso por no mostrar resultados consistentes, modificado por medio de la matriz de co-ocurrencia la cual se benefició de las intensidades y de sus posiciones relativas, a partir de la que se extrajeron los valores de media, varianza, desviación estándar, correlación y entropía adecuados para la descripción de la pigmentación y homogeneidad, disimilaridad, contraste y uniformidad para la distribución de la cromatina. El reconocimiento de patrones texturales recurrió a dos redes neuronales usando la subdivisión anterior e integró sus salidas con un algoritmo de evaluación.

En la coloración magnitudes como media, moda, máximos y mínimos se lograron de los planos RGB, encontrando los intervalos para núcleos normales e hipercromáticos.

El ajuste de curvas hace parte de la metodología empleada para medir la regularidad en los contornos, que inició comparando el borde del objeto con las curvas generadas a partir de los radios mayor, menor y promedio, la que se complementó añadiendo el examen con las curvas verticales, dada la existencia de núcleos rotados y la diferencia en los valores arrojados respecto a la referencia médica.

Entre los descriptores anteriormente mencionados se considera el algoritmo de coloración como el más impreciso respecto a los demás, a pesar de presentar pocos errores en la evaluación. Se aconseja calcular los niveles de color para células con coloración de Papanicolaou, puesto que los rangos solo fueron dados para células con coloración de hematoxilina.

En las relaciones de los objetos de la imagen se tuvieron en cuenta los diámetros mayor y menor de cada uno, y la proporción en que estos se encontraban para el

caso del halo y citoplasma. Las comparaciones adicionales se realizaron con medidas encontradas en la literatura del núcleo y citoplasma para células intermedias, haciendo antes la transformación de las medidas pixeles a micras. Se corroboró el uso del estándar para la conversión de medidas y la determinación correcta de aumento en el núcleo y citomegalia.

La binucleación es el segundo hallazgo citológico propio de la infección por VPH, al que se efectuó menor estudio, principalmente por la presencia insuficiente de esta en las imágenes adquiridas. Sin embargo se implementó un método que permite identificar dos o más núcleos en una célula, pero que visiblemente exista separación, de lo contrario es tomado como característica irregular del núcleo. Por lo anterior se sugiere incluir en la muestra casos típicos de bi-multinucleación y desarrollar los algoritmos para reconocimiento de estos.

Todos los resultados obtenidos de las características de las células que presenten infección por VPH son vinculados y relacionados al léxico médico, haciéndolos coincidir con parámetros establecidos del virus dándole ponderación equivalente a cada uno, con el fin de indicar al usuario el margen de probabilidad de existencia de la patología y apoyarlo en la toma de decisiones.

Teniendo en cuenta lo expuesto en el capítulo se concluye que el trabajo realizado cumple a cabalidad con los objetivos planteados al comienzo y representa un aporte significativo tanto en el área de la salud como a la Ingeniería de Sistemas.

14. FUNCIONAMIENTO DE LA HERRAMIENTA SOFTWARE

A continuación se presenta una descripción de cada uno de los elementos que hacen parte de la herramienta y que contribuyen en la identificación de patrones que caracterizan el virus del papiloma humano

Ejecución. Una vez se ubique la línea de comandos de la plataforma Matlab en el directorio que contiene la herramienta software, se ejecuta la aplicación con el nombre de: *VPH*. Como se muestra en la siguiente figura 43.

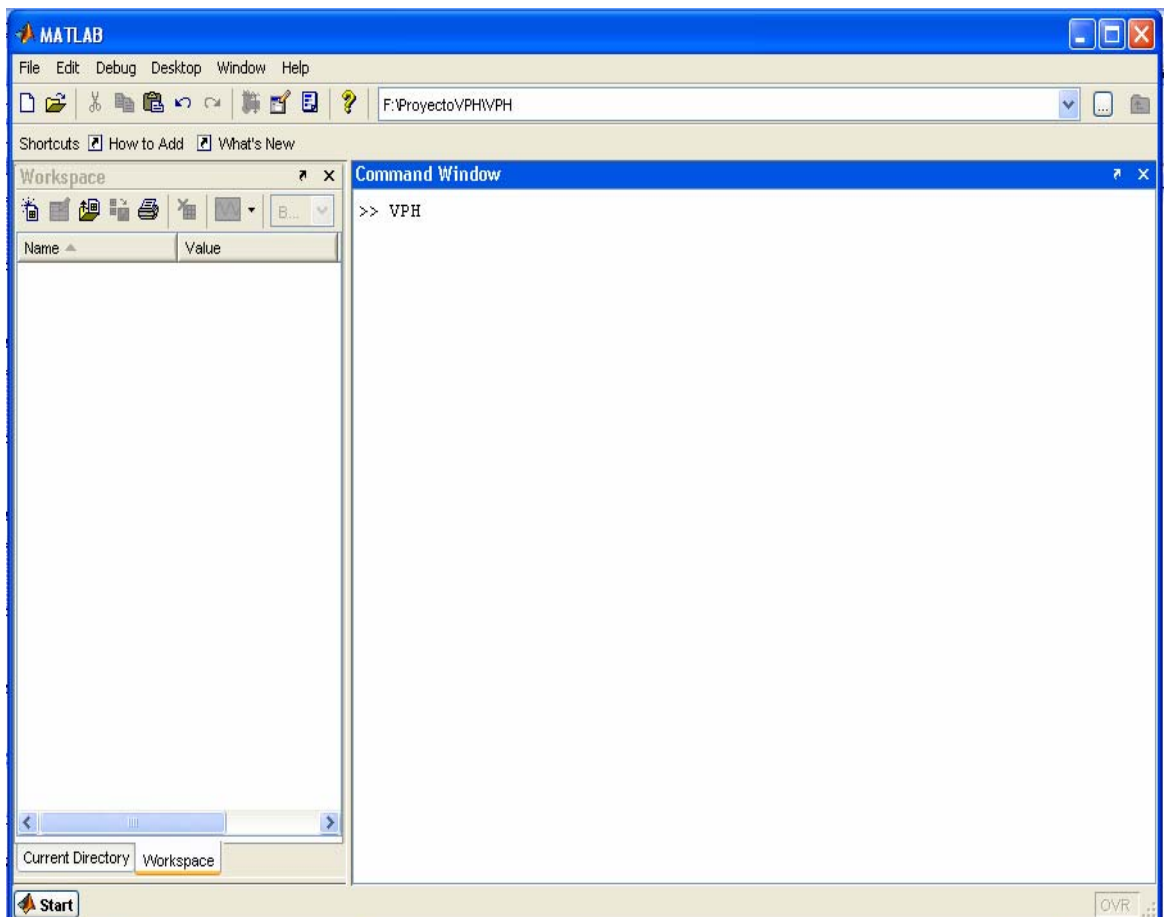


Figura 43. Ejecución de la herramienta en la línea de Comandos Matlab.

14.1 FORMULARIO PRINCIPAL

Es el primer formulario desplegado, el más grande e importante ya que sobre éste se visualizan los resultados de la aplicación de funciones a las imágenes. Contiene cinco menús que son habilitados de acuerdo al cumplimiento de las etapas del proceso. (Figura 44).

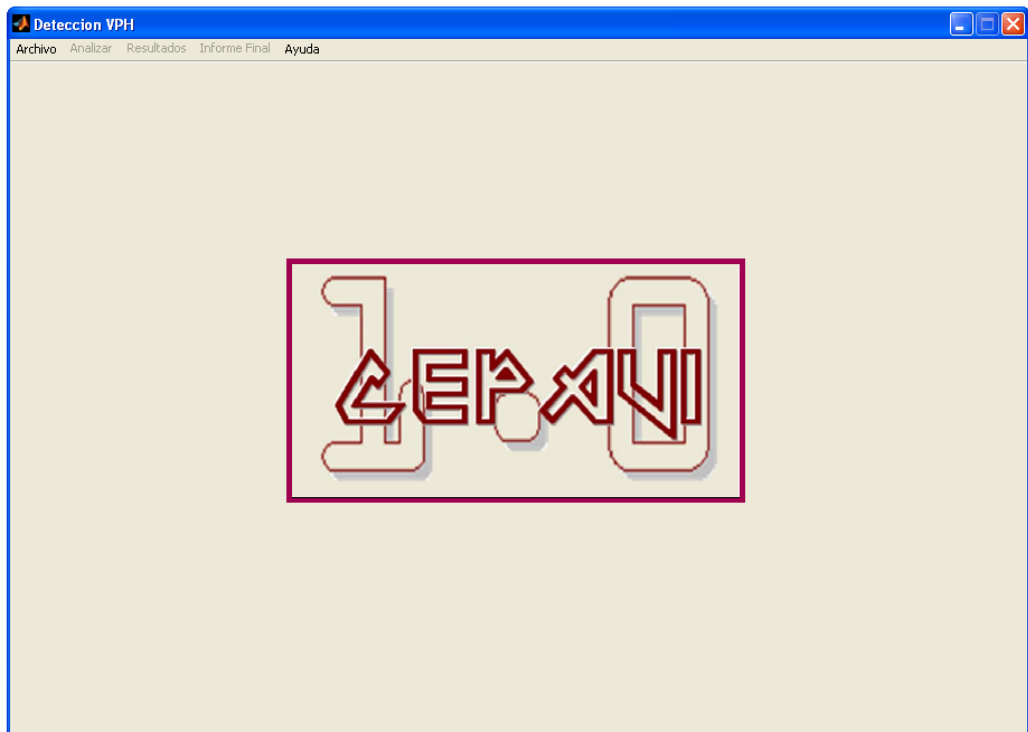


Figura 44. Ventana Principal

14.2 MENÚ ARCHIVO

Contiene los Sub-Menús registrar paciente, Actualizar datos del paciente, abrir imagen y salir. Es el menú a partir del cual se inicia el proceso de tratamiento de las imágenes. (Figura 45).

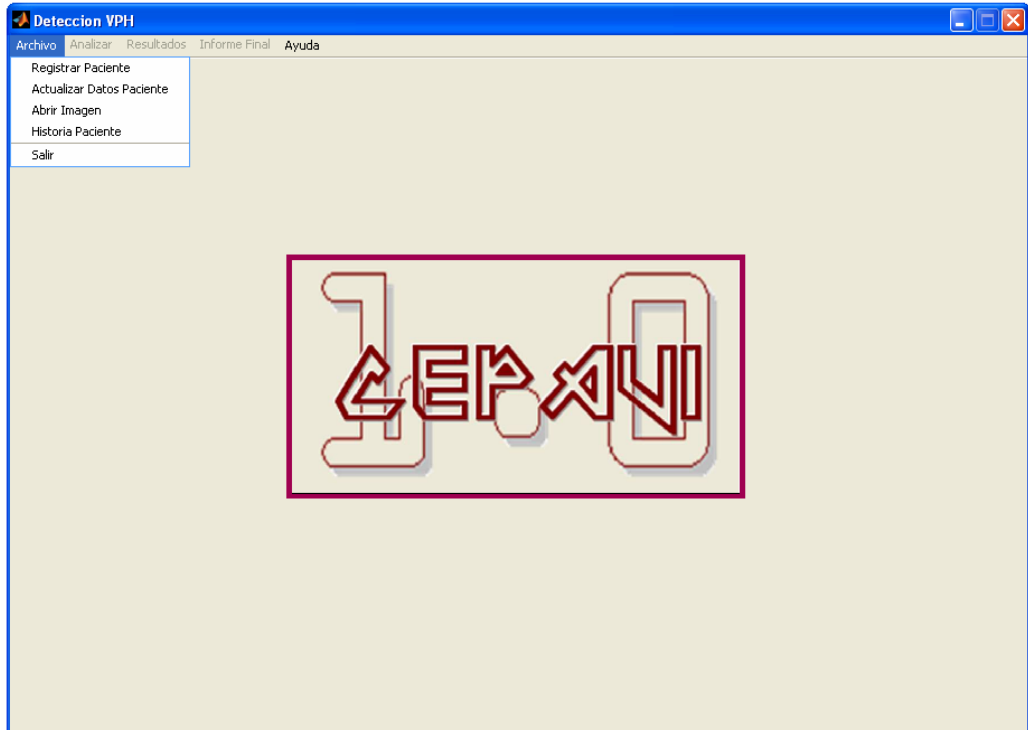


Figura 45. Menú Archivo

14.2.1 Sub-Menú Registrar Paciente

Permite obtener los datos del paciente tales como Nombres, Apellidos, Cédula, Fecha de nacimiento, Edad, Dirección y Teléfono y almacenarlos en la base de datos. (Figura 46).

The image shows a screenshot of a software application window titled "Deteccion VPH" with a menu bar containing "Archivo", "Analizar", "Resultados", "Informe Final", and "Ayuda". A modal dialog box titled "Registro de Paciente" is open, containing the following fields and controls:

- REGISTRO** (Section Header)
- Nombres:
- Apellidos:
- Cedula: Edad:
- F/ Nacimiento:
- Direccion:
- Telefono:
- Buttons:

Figura 46. Registrar Paciente

14.2.2 Sub-Menú Actualizar Datos Paciente

Mediante la cédula obtenida en una nueva ventana y con una búsqueda posterior donde se verifica la existencia de la paciente, se actualizan los campos Dirección y Teléfono capturados en el sub-menú Registrar Paciente. (Figura 47).

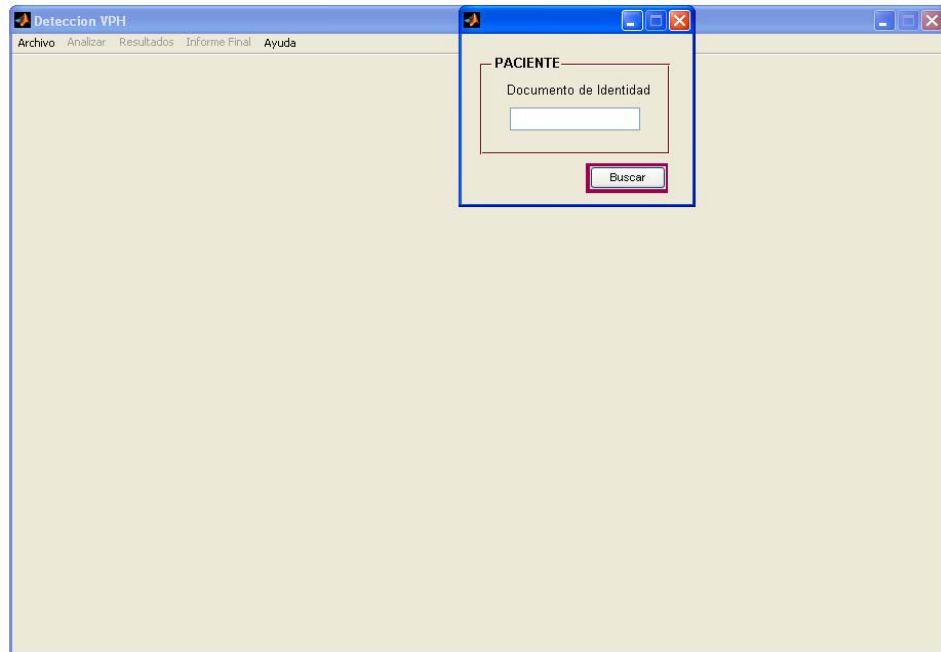


Figura 47. Actualizar Datos

14.2.3 Sub-Menú Abrir Imagen

Permite cargar una imagen desde una ventana desplegada, independientemente del formato y a quien pertenezca. (Figura 48).

Después de ser seleccionada la imagen, ésta aparece en la parte izquierda del formulario principal donde se debe elegir la célula a estudiar. (Figura 49). Dicha célula se muestra en el sector derecho del formulario y presenta la opción de volver a escoger la región de estudio, tantas veces como se requiera.

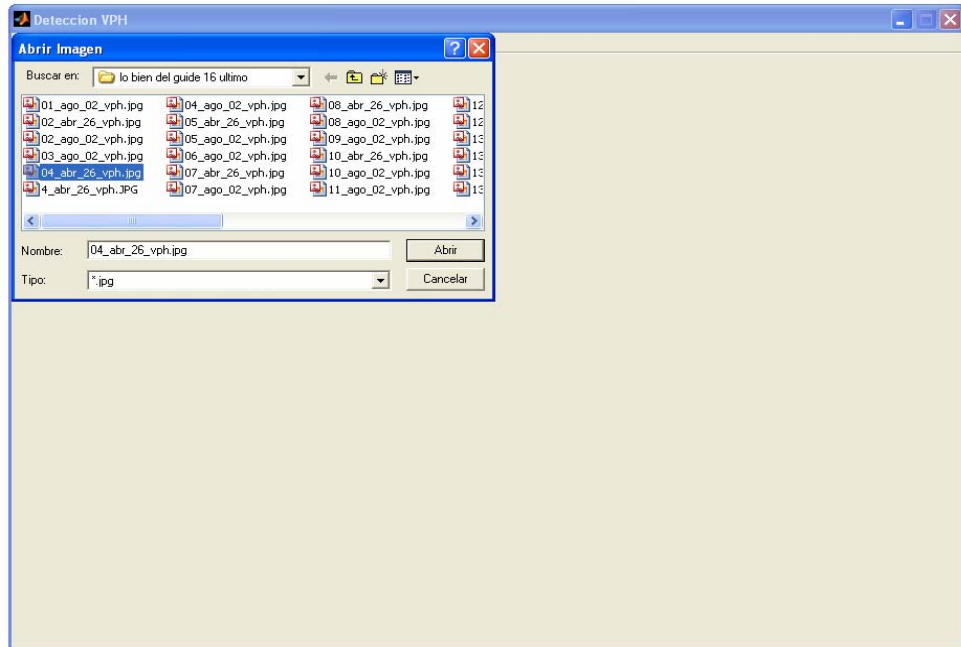


Figura 48. Abrir Imagen.

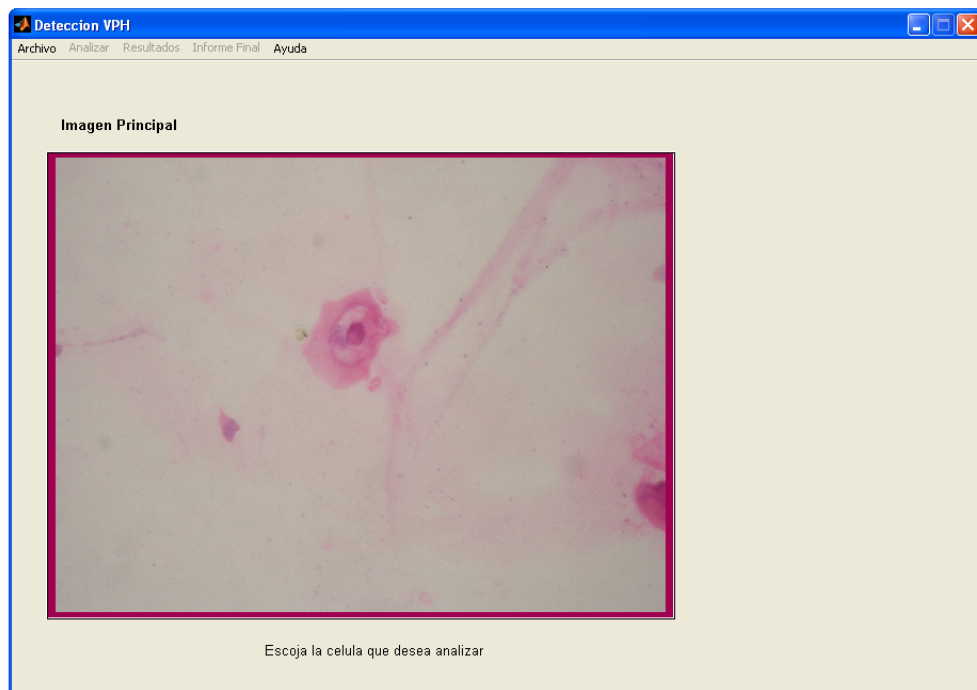


Figura 49. Imagen principal menú Archivo.

Inmediatamente se escoja el área definitiva, se habilita el menú Analizar, dando final a la primera etapa del procesamiento de imágenes (Figura 50).

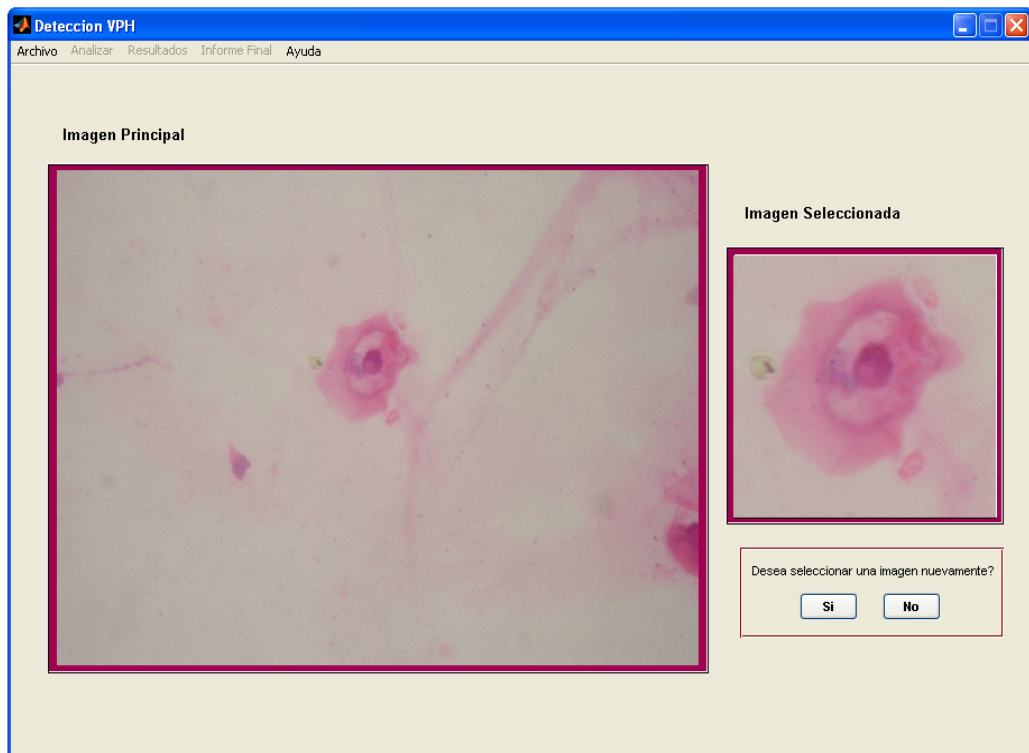


Figura 50. Imagen Seleccionada.

14.3 MENÚ ANALIZAR

Consta de dos sub-menús correspondientes a dos de las etapas del tratamiento digital de imágenes, Filtrado y Segmentación. La primera es opcional, y de ser empleada, se procede a la aplicación de la segunda, pero no de forma inversa (Figura 51).



Figura 51. Menú Analizar

14.3.1 Sub-Menú Filtrar

Es un sub-menú opcional, ofrece 6 filtros diferentes cuyo uso depende de la calidad de las imágenes y del nivel de ruido presente en ellas. (Figura 52). Se muestra la imagen preprocesada con cada uno de estos métodos, en seis cuadros diferentes, que colaboran para la comparación entre ellos.

Al decidir la opción a seguir, las demás son deshabilitadas; si desea volver a realizar este paso, el procedimiento es el mismo partiendo del menú archivo, y pudiendo efectuarlo tantas veces como se desee. (Figura 53).

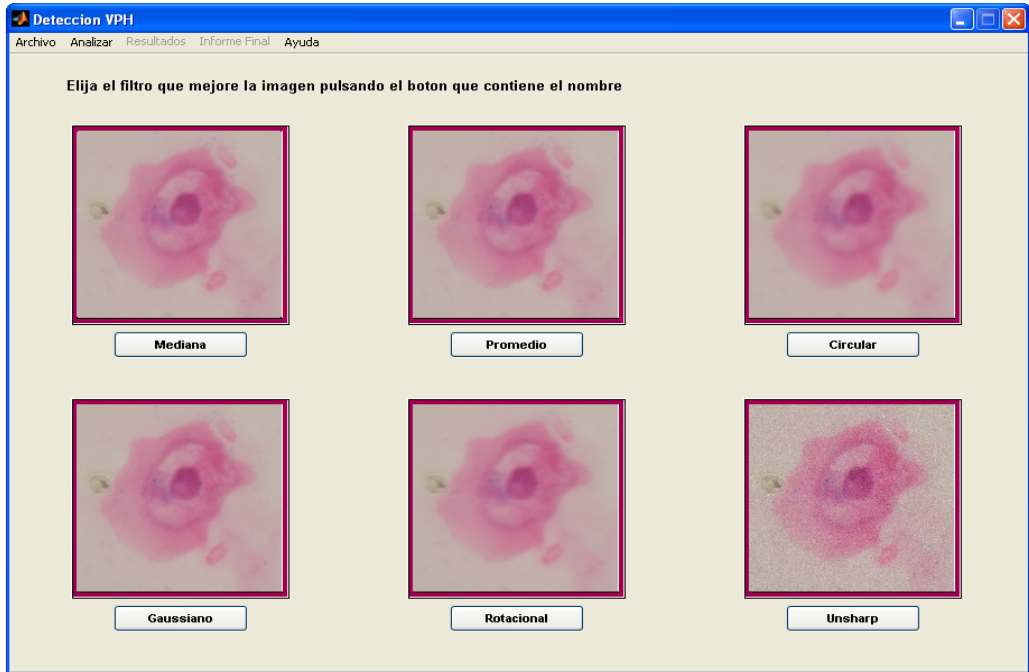


Figura 52. Sub-Menú Filtrar

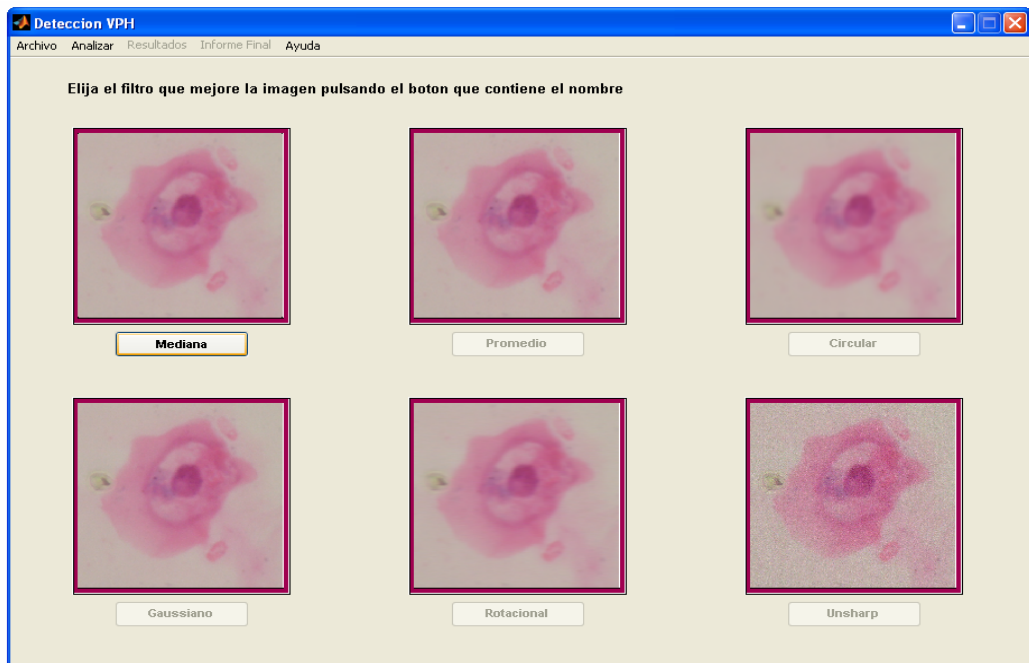


Figura 53. Imagen filtrada

14.3.2 Sub-Menú Segmentar

Brinda cuatro métodos de segmentación para el citoplasma y tres para el núcleo con procedimientos independientes. Inicialmente el método que se observa para ambos objetos después de seleccionar esta etapa es el HLS. La última de las opciones encontrados es manual, que se emplea para ajustar a criterio personal el umbral que determine con mayor precisión el área. (Figura 54).

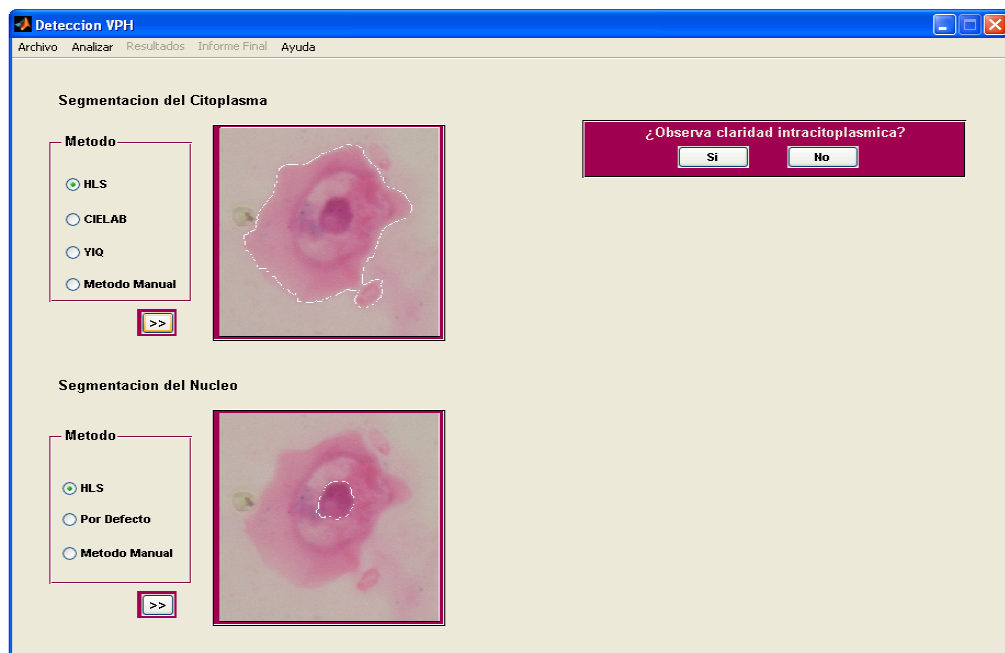


Figura 54. Segmentación Núcleo y Citoplasma

Se adiciona un botón tanto para el citoplasma como para el núcleo, con el fin de hacer la comparación entre los métodos optativos de segmentación. La figura 55, representa los tres métodos del citoplasma, la figura 56 las dos técnicas correspondientes al núcleo y la figura 57 los resultados de los métodos manuales para ambos objetos u que utilizan barras de desplazamiento para ajuste del umbral.

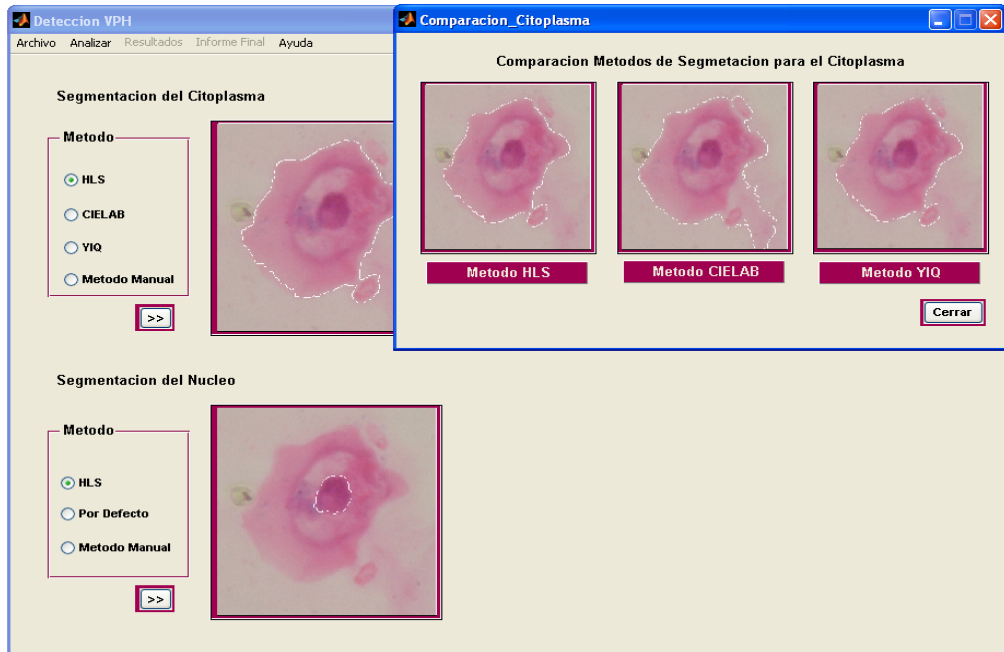


Figura 55. Comparación del Citoplasma.

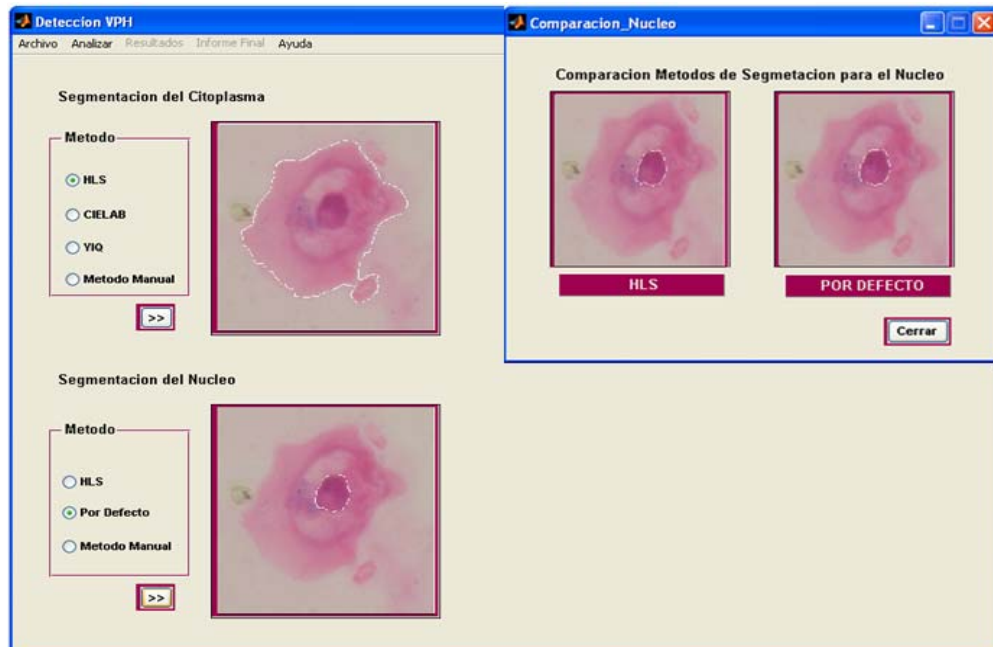


Figura 56. Comparación del Núcleo

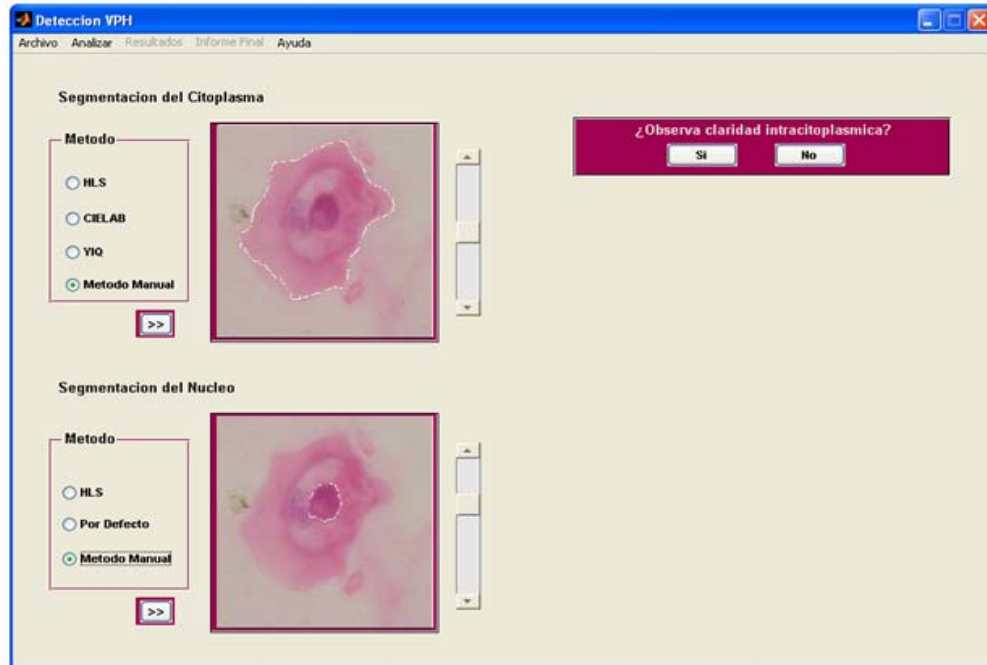


Figura 57. Métodos manuales para núcleo y citoplasma

Referente a la segmentación del halo, se escoge la opción Si de ser observada claridad en el citoplasma (Figura 58) y dando clic en cada punto se delimita el borde de ésta para formar un polígono.

Al completar éste procedimiento pulse dos veces seguidas clic para que se delimite el área trazada sobre la imagen. (Figura 59), habilitando el menú resultados, y el botón que realiza nuevamente la segmentación, como se puede apreciar en la figura 60.

Si se escoge la opción No, el proceso seguirá normalmente (Figura 61).

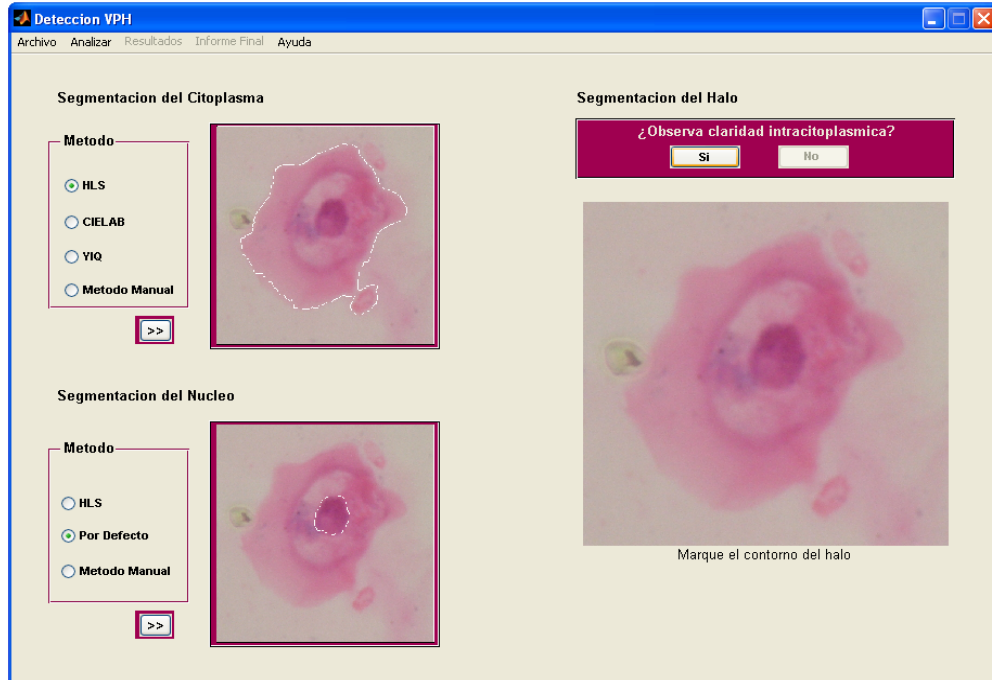


Figura 58. Puntos de la segmentación del Halo

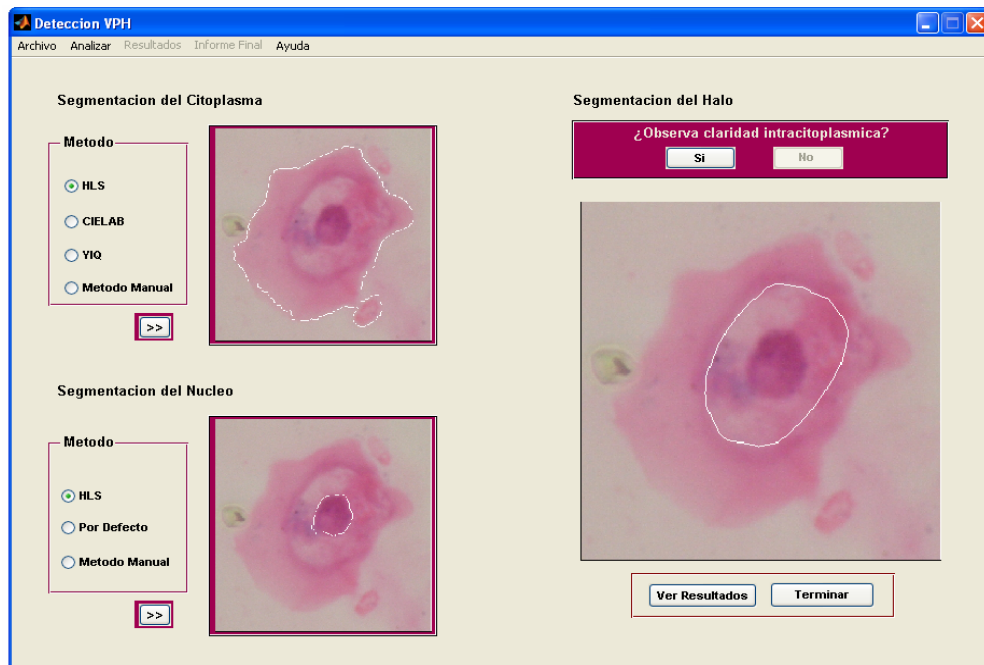


Figura 59. Finalización segmentación del halo

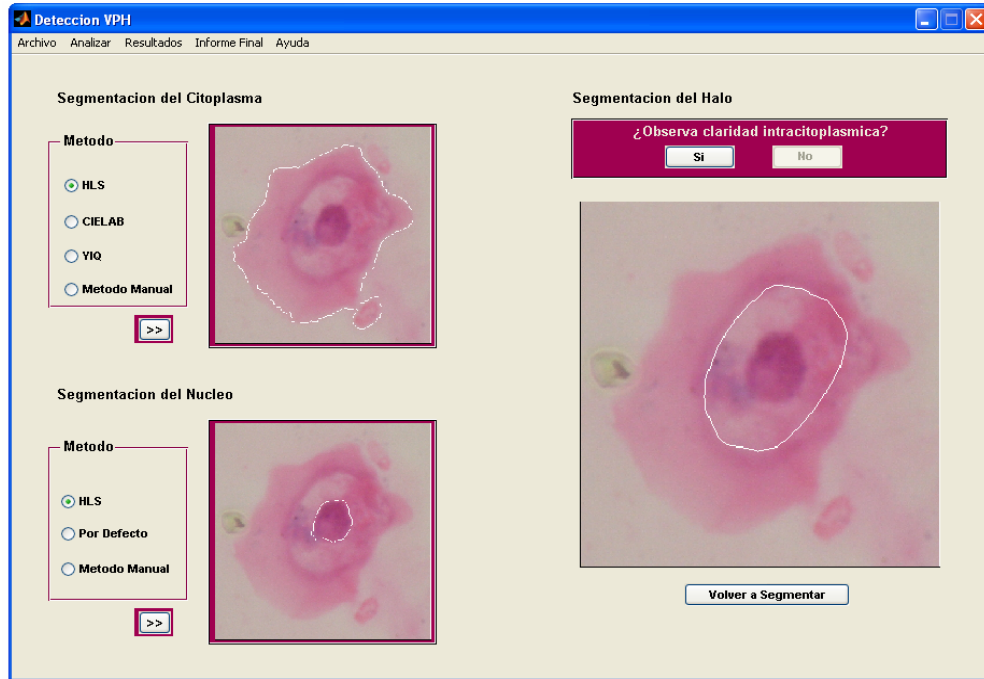


Figura 60. Detalles segmentación del halo

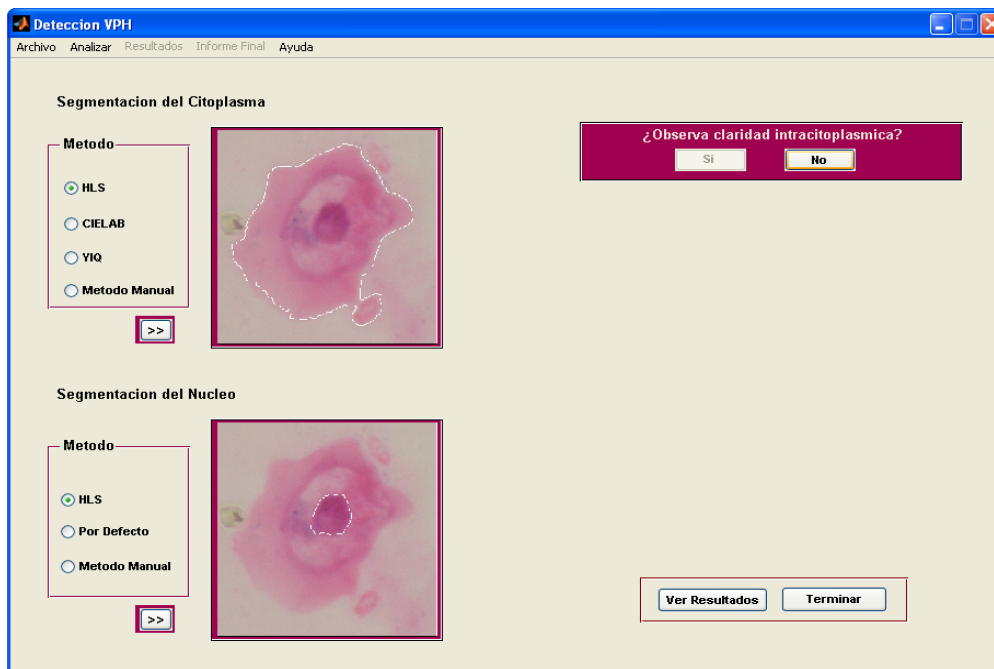


Figura 61. Selección del botón no para existencia del halo

14.4 MENÚ RESULTADOS

Está constituido por los sub-menús de resultados del citoplasma, núcleo y halo y contiene la información extraída que describe los objetos anteriores y un sub-menú informe final que muestra cuales de los parámetros que corresponden a infección del virus presentan en la célula. (Figura 62). Este menú se habilita cuando se escoge la opción no del halo, de lo contrario se habilita cuando se terminan de escoger los puntos del mismo.

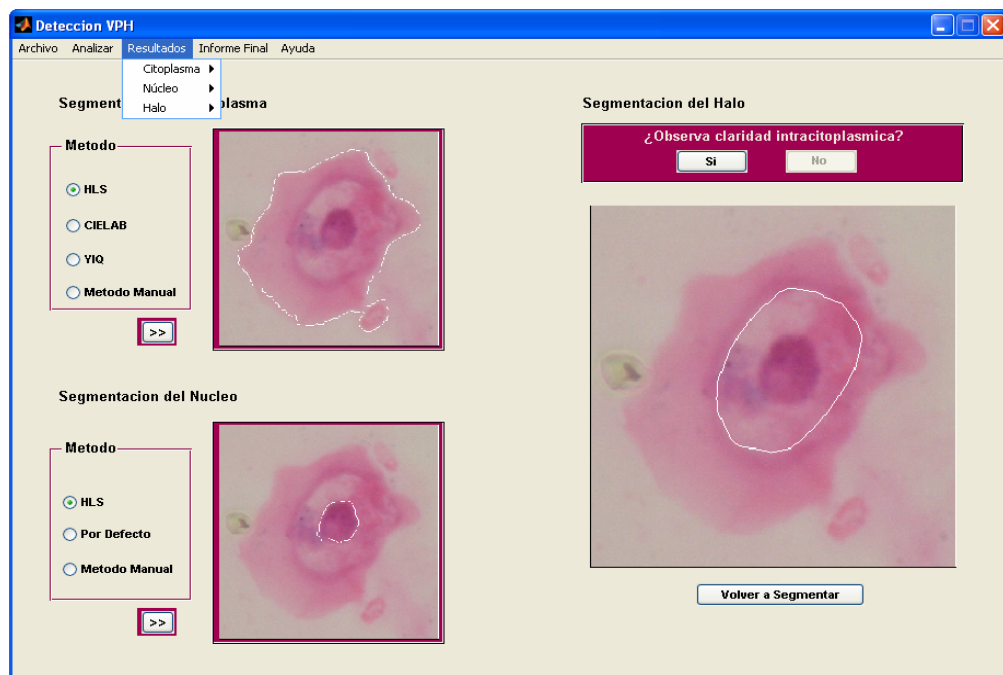


Figura 62. Menú Resultados

14.4.1 Sub-menú Citoplasma

Éste sub-menú presenta dos opciones, Parámetros y Relaciones. (Figura 63). El primero proporciona los datos propios del citoplasma (Figura 64) y el segundo las relaciones del mismo con el núcleo y el halo. (Figura 65).

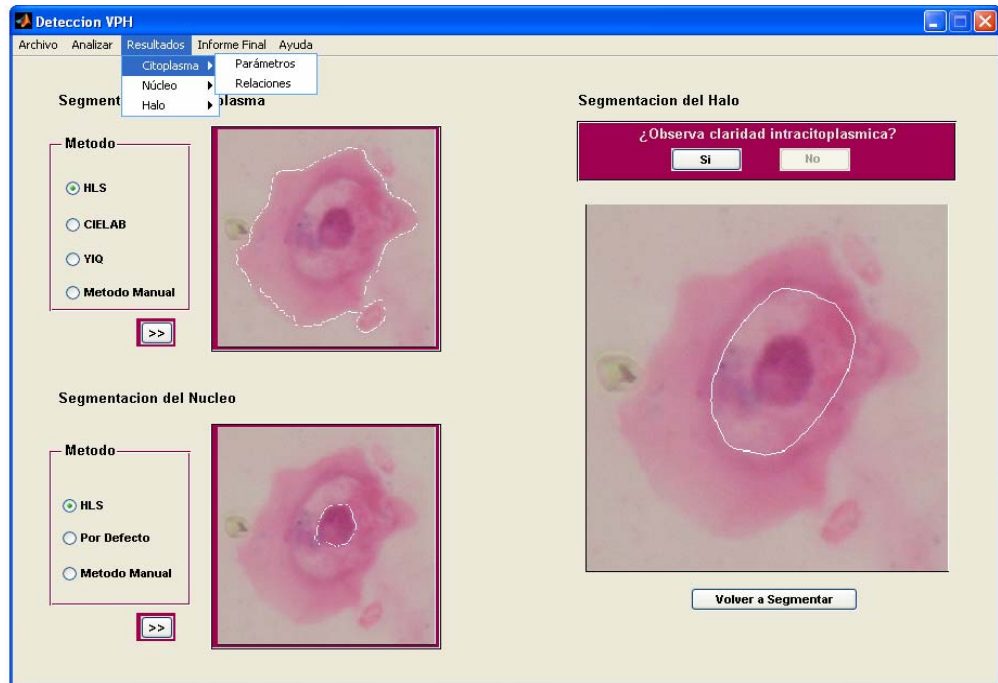


Figura 63. Sub-menú Resultados Citoplasma

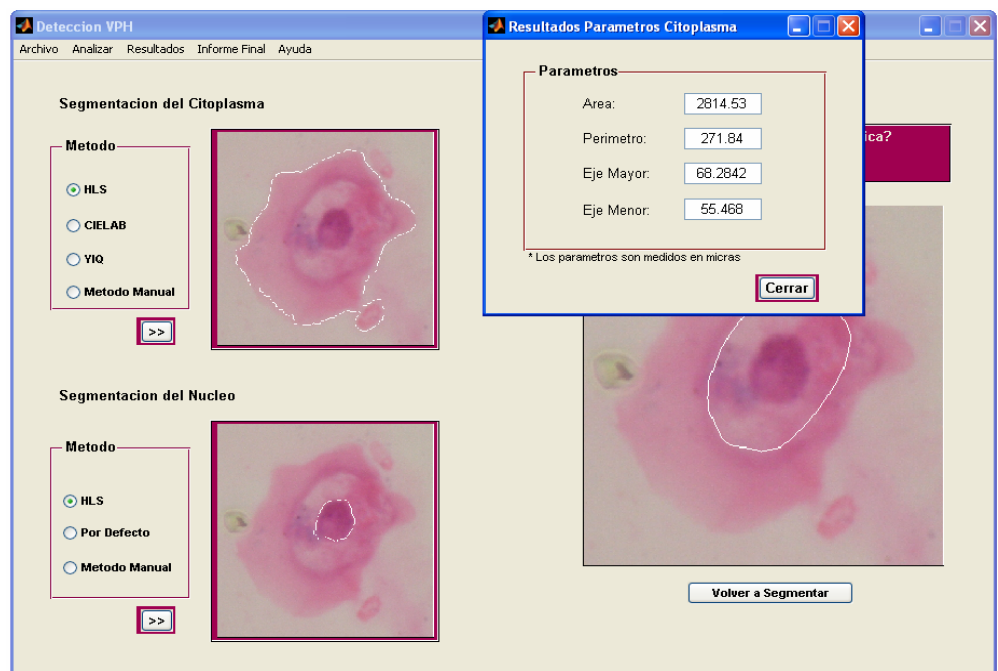


Figura 64. Resultados Parámetros del Citoplasma

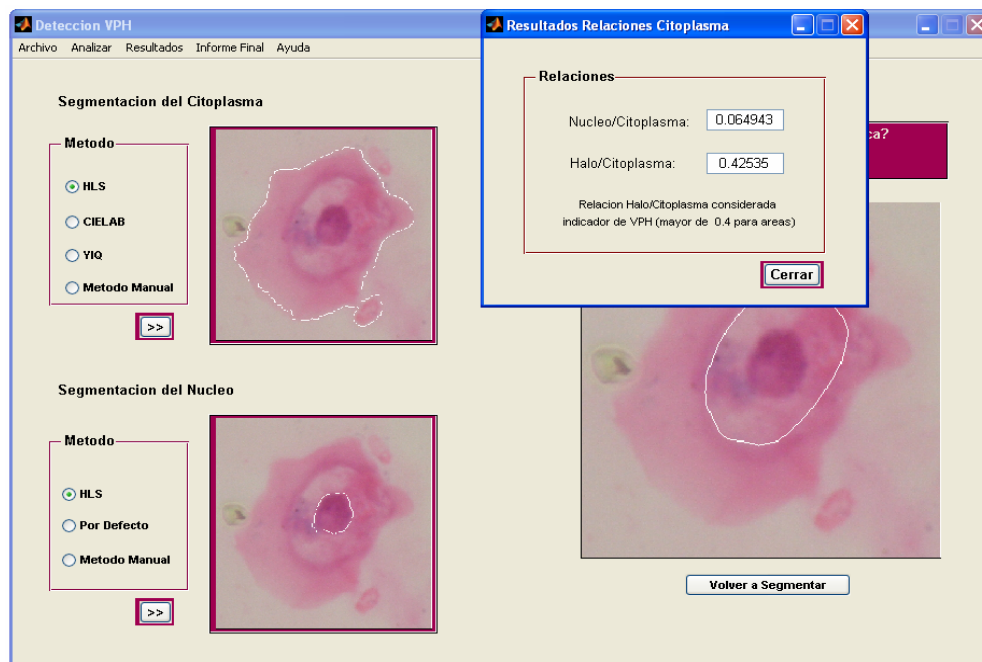


Figura 65. Resultados Relaciones Citoplasma

14.4.2 Sub-menú Núcleo

Compuesta de cuatro opciones, textura, parámetros, color y regularidad, agrupadas según el indicador que se analiza en relación al virus, (Figura 66). En este sub-menú se encuentran registrados los datos encontrados por los algoritmos implementados para la descripción de las características

Al igual que en el sub-menú del citoplasma, el formulario parámetros del núcleo muestra los valores físicos más representativos, área, perímetro y diámetros mayor y menor. (Figura 67).

En el formulario de textura se publican los valores calculados para los estadísticos usados como entradas de las redes, (Figura 68) y en el de la coloración, valores máximo, mínimo, medio y moda de los planos de color (Figura 69)

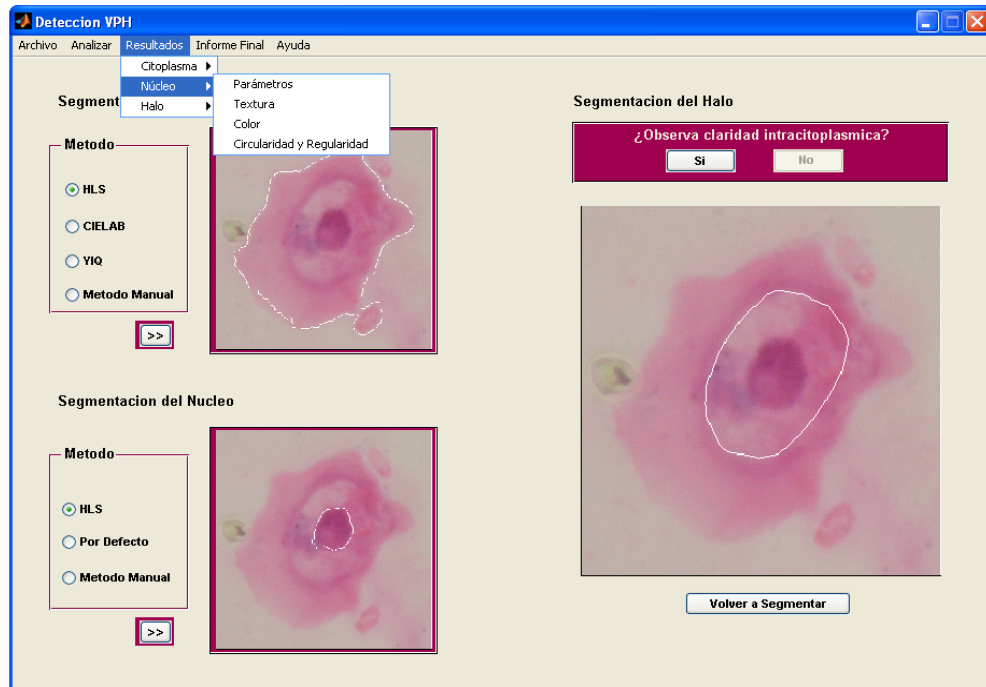


Figura 66. Sub-menú Resultados del Núcleo

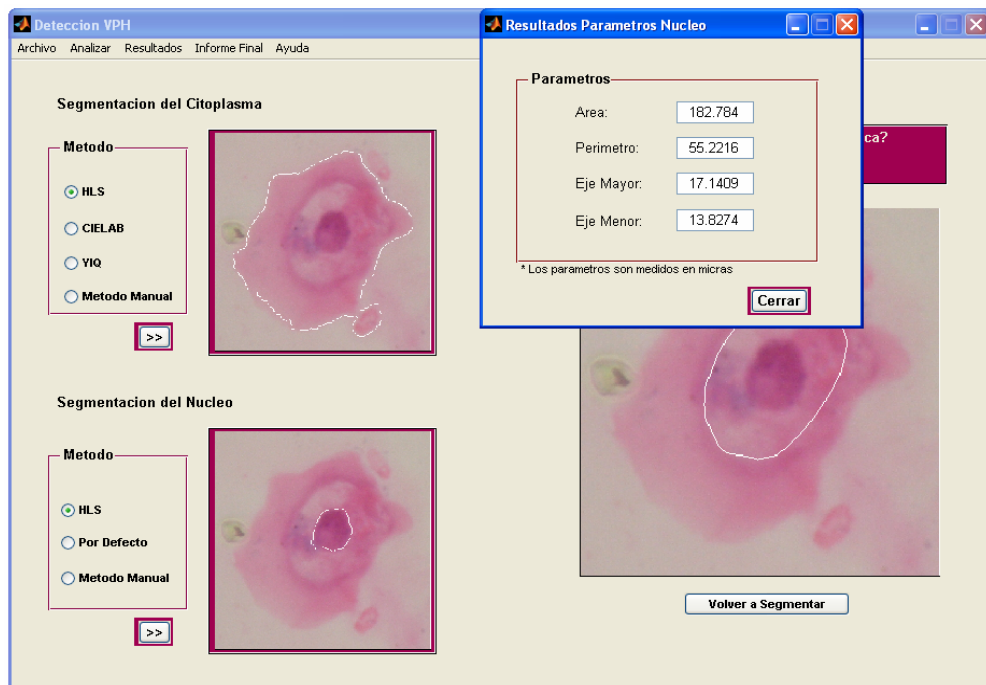


Figura 67. Resultados Parámetros del Núcleo.

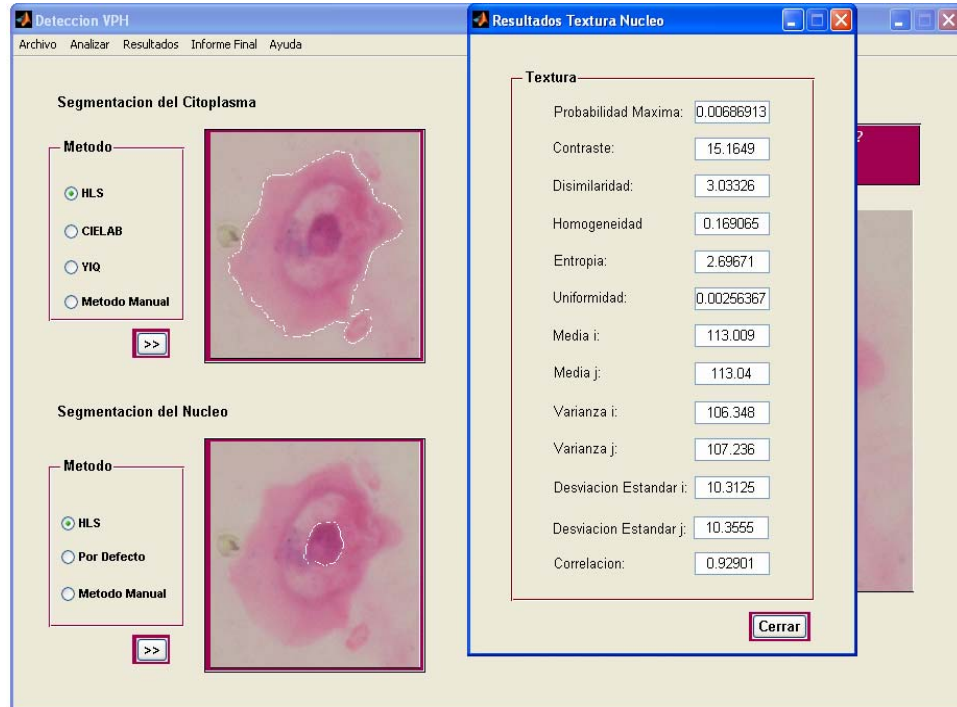


Figura 68. Resultados Textura del Núcleo.

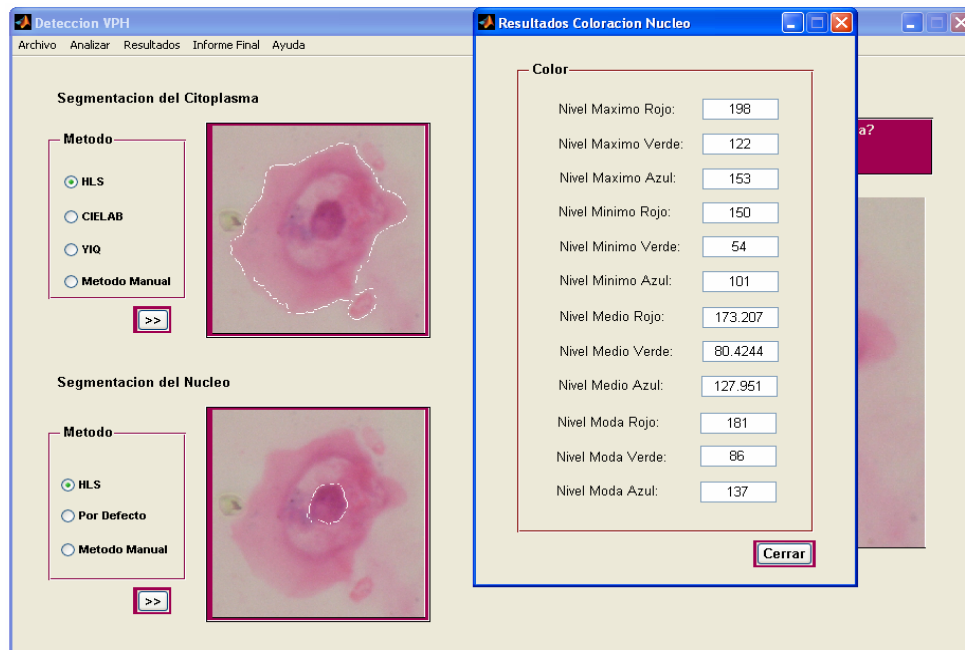


Figura 69. Resultados Coloración del Núcleo.

En la evaluación de la regularidad se despliega un formulario donde están incluidos los cálculos de redondez, compacidad y de ajuste a seis de curvas para el contorno del núcleo, adicionalmente incluye la interpretación gráfica para tres de las elipses. El núcleo original es el dibujado con línea roja, (Figura 70).

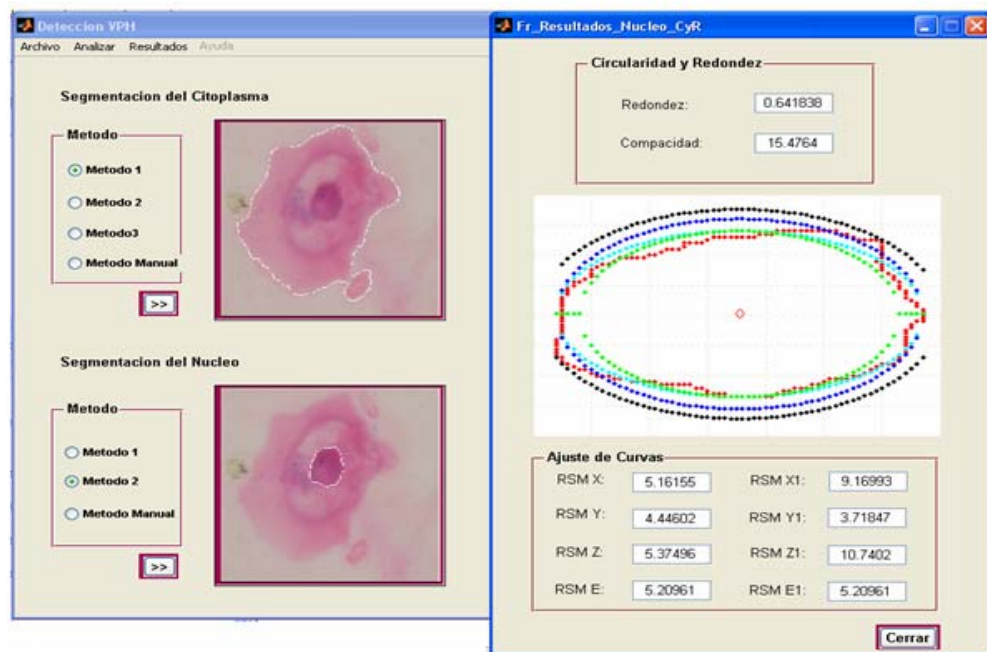


Figura 70. Resultados Circularidad y Regularidad del Núcleo

14.4.3 Sub-menú halo

La opción del sub-menú halo al igual que la de parámetros para núcleo y citoplasma entrega las magnitudes del área, el perímetro y los diámetros propio de este. Lo anterior se corrobora en la figura 71

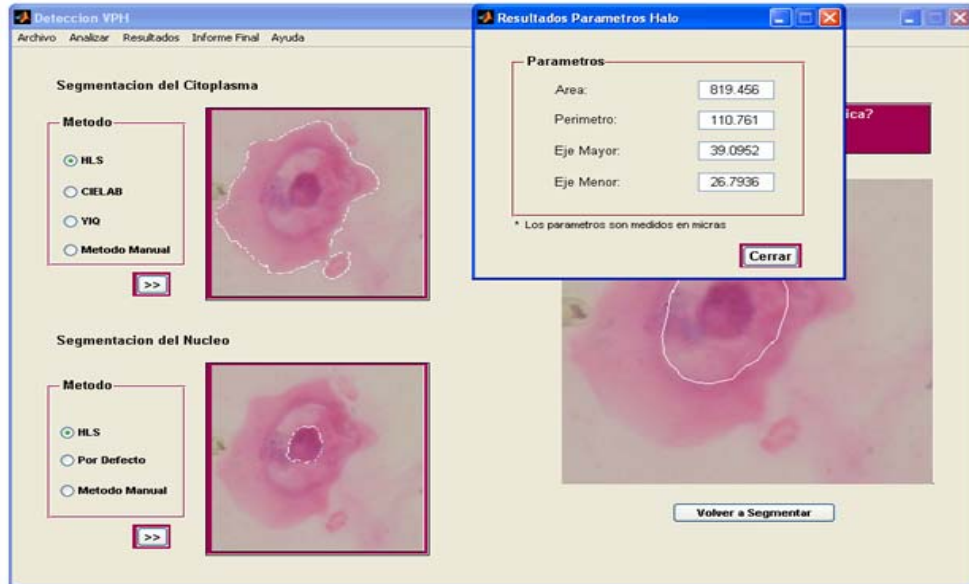


Figura 71. Resultados Parámetros del Halo.

14.5 MENÚ INFORME FINAL

Este menú está integrado por dos sub-menús, Diagnóstico y Guardar datos, cuya mayor utilidad es prestada en el apoyo a la toma de decisiones. (Figura 72).

14.5.1 Sub-menú Diagnóstico

Despliega el formulario que lista las alteraciones estudiados para el virus, empleando vocabulario adecuado fácil de ser comprendido por el médico patólogo, señalando para cada uno su ocurrencia, cuantificando la probabilidad de presencia del virus en la célula. (Figura 73).

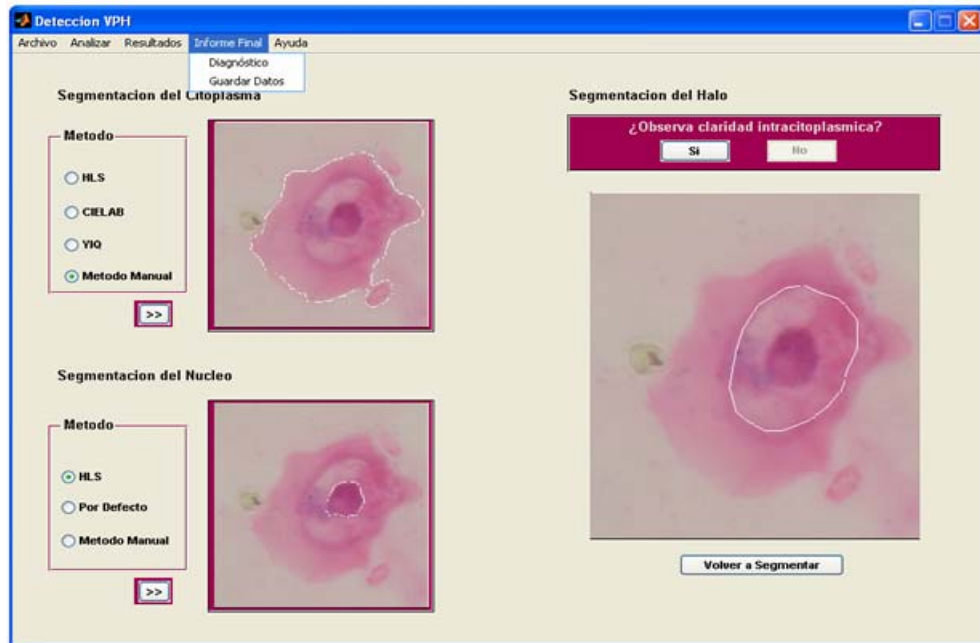


Figura 72. Menú Informe Final

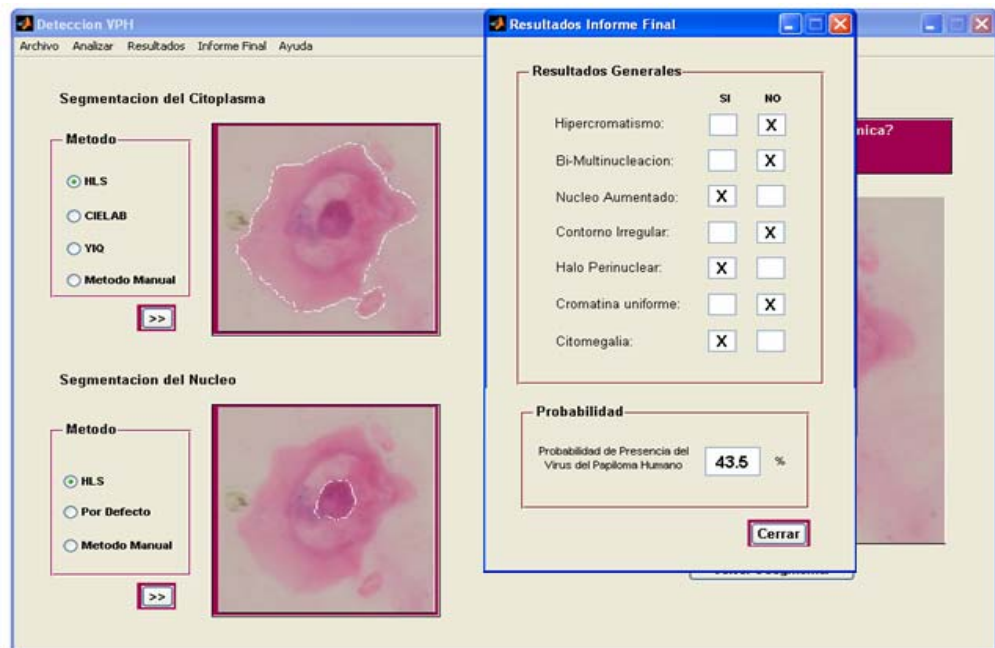


Figura 73. Sub-Menú diagnóstico

14.5.2 Sub-menú Guardar Datos

Habilita el formulario que presenta asocia la imagen a una paciente, verificando a través de una búsqueda la existencia de la persona, de ser encontrada, habilita el formulario de registro de célula y activa la opción de guarda los datos extraídos en la Base de Datos. (Figura 74).

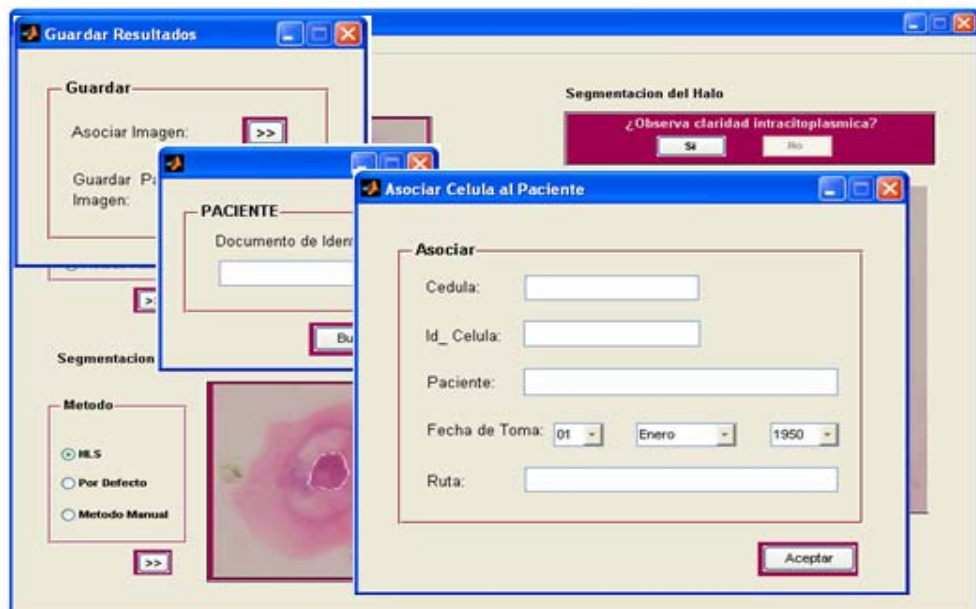


Figura 74. Sub-menú Guardar datos

14.6 MENÚ AYUDA.

Contiene dos sub-menús, ayuda y acerca de, que se mantienen siempre visible durante en todo el tiempo que se use el prototipo. (Figura 75), el sub-menú de Ayuda, describe los pasos que se pueden llevar a cabo durante todo el proceso en su respectivo orden. La inducción por la herramienta está dividida en menús y sub-menús (Figura 76). Y el sub-menú acerca de, señala el nombre del software, sus autoras, directores y codirectores. (Figura 77)

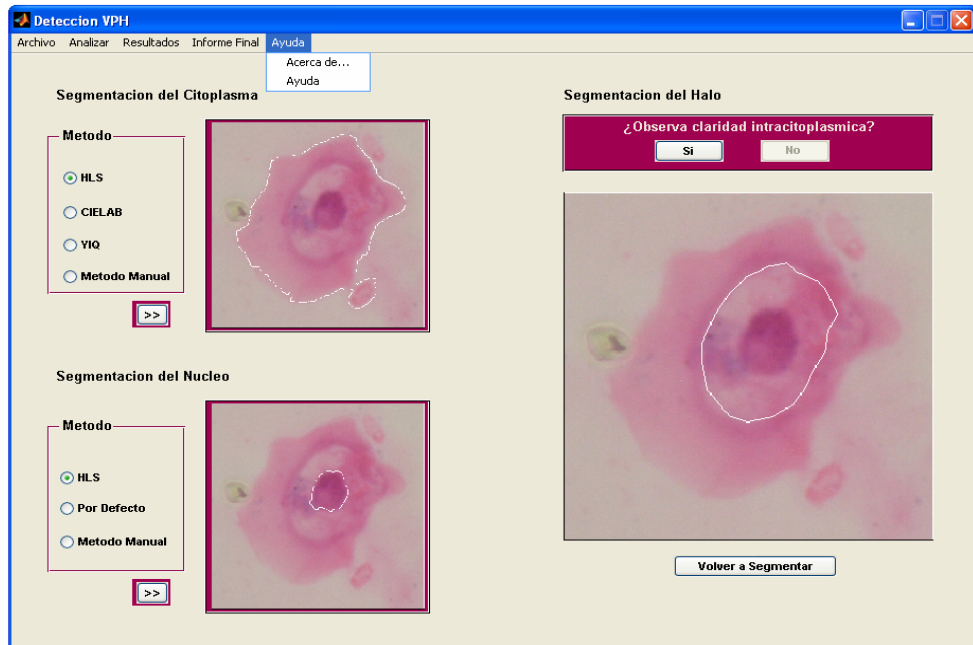


Figura 75. Menú Ayuda.

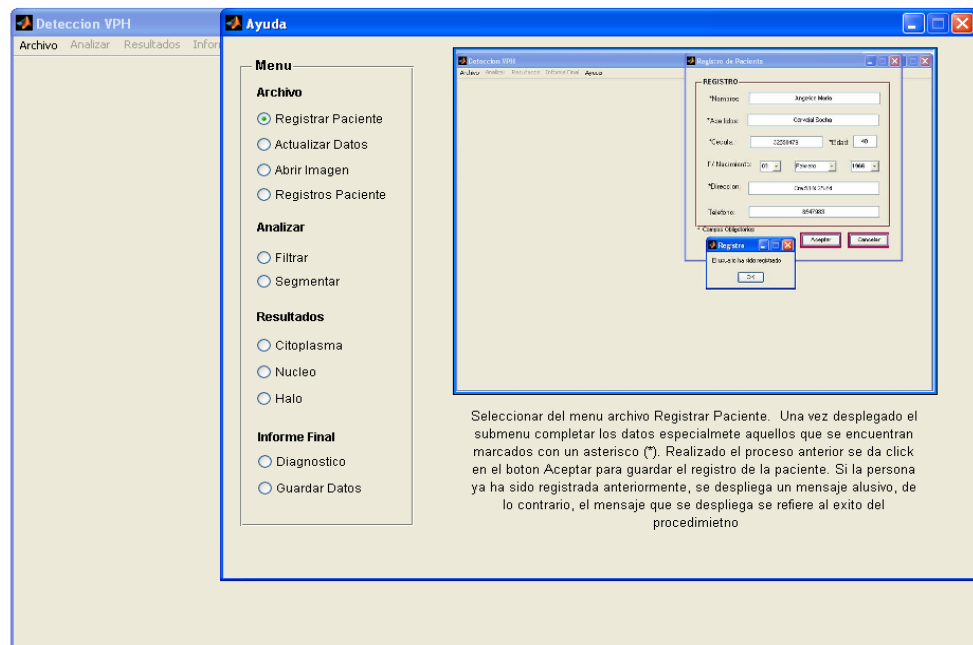


Figura 76. Sub- menú Ayuda

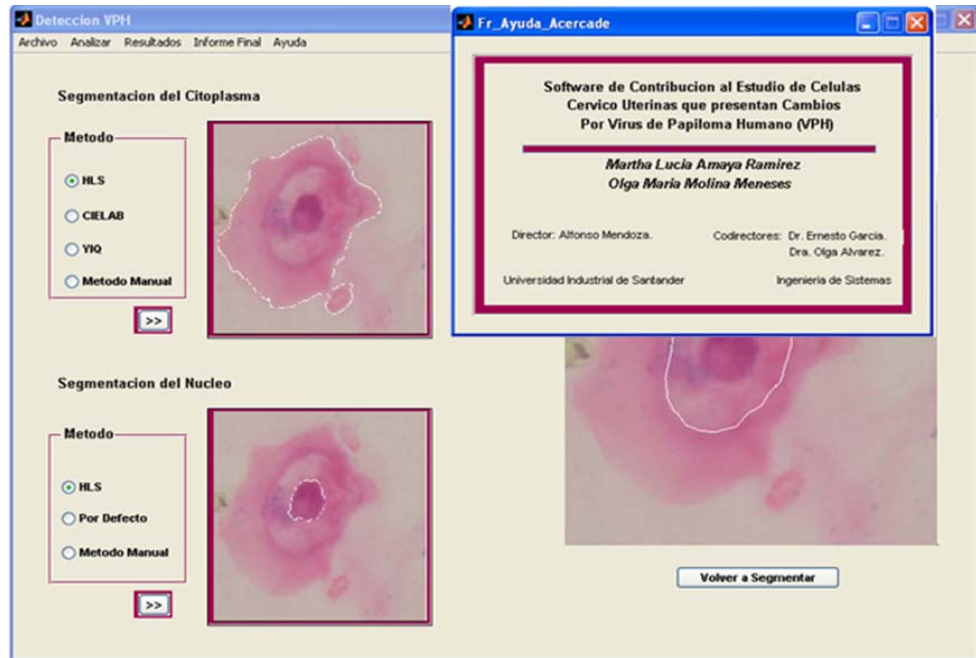


Figura 77. Sub –menú Acerca de

14.7 HISTORIAL DEL PACIENTE

Ésta opción pertenece al menú archivo en la que se permite por medio de una cédula obtener todas las imágenes que han sido estudiada de una paciente, en orden cronológico. Dando clic en la ruta de la imagen, ésta es desplegada dentro del formulario habilitando la opción de diagnóstico que muestra el resumen del estudio.

Éste submenú se implementó con el fin de llevar el seguimiento de una paciente en todo el tiempo de su tratamiento y poder hacer comparaciones entre las etapas del proceso clínico. (Figura 78)

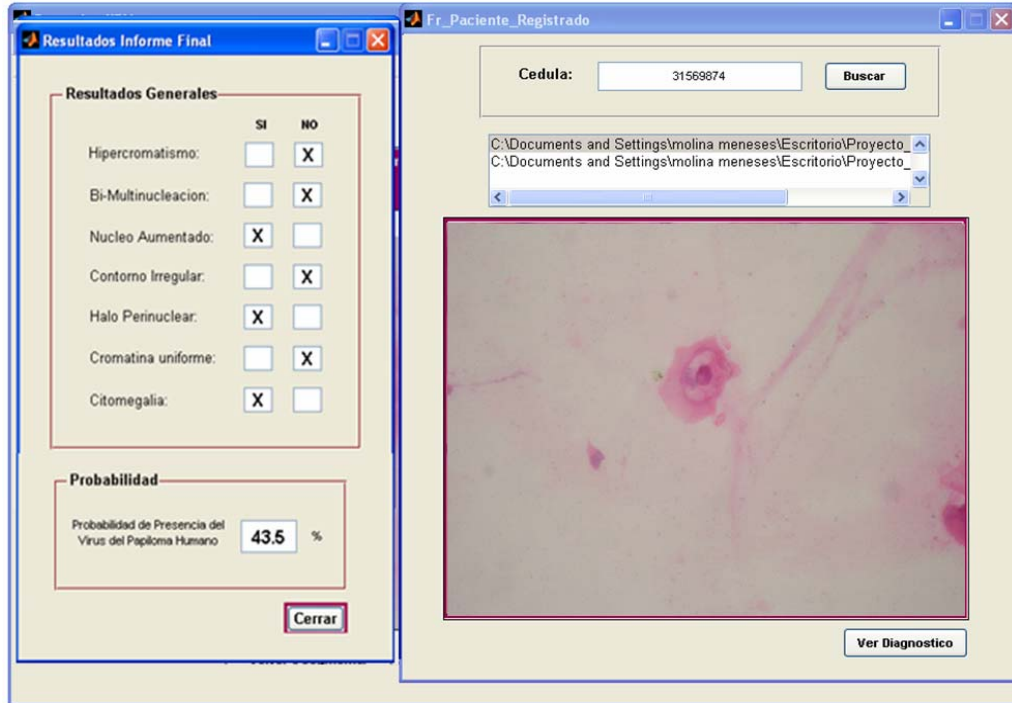


Figura 78. Historial del Paciente

15. CONCLUSIONES

Se construyó una herramienta software que permite al usuario tomar la decisión de si hay o no infección del Virus del Papiloma Humano, a partir de las características identificadas.

Se establecieron los criterios correspondientes a cada uno de los parámetros a evaluar en las células escamosas que presentan infección por Virus de Papiloma Humano (VPH) principalmente en células intermedias.

Se implementaron algoritmos en cada etapa del procesamiento digital de imágenes, para la identificación de los parámetros de clasificación de células escamosas que presentan infección por VPH,

Se utilizó la Metodología del Proceso Unificado de Desarrollo del Software, que permite desarrollar de forma ordenada e iterativa la herramienta y estandarizar la documentación.

Se utilizaron métodos de Inteligencia Artificial como redes neuronales, que permitieron reconocimiento de patrones en células que presentan infección por VPH.

16. RECOMENDACIONES

Mejorar los algoritmos de segmentación para hacer el estudio en células traslapadas o grupos de células.

Ampliar la muestra de imágenes, complementando con células tinturadas con Papanicolaou, y obtener los rangos para la coloración del núcleo.

Obtener imágenes donde haya presencia de bi-multinucleación en las células, para el estudio del parámetro en casos de núcleos que formen una sola masa.

Buscar un método de segmentación automático para el halo o detección de este, con algoritmos más avanzados.

A medida que el conocimiento sea ampliado se hace necesario, incluir nuevos datos y entrenar las Redes Neuronales para mejorar el reconocimiento de las características.

Construir algoritmos para la eliminación de polimorfos y organismos que se encuentren en la citología que alteren la segmentación de los objetos de la imagen.

Hacer un plan de integración de los proyectos que se están desarrollando en la misma área.

BIBLIOGRAFÍA

TRISTANCHO Celis Luz Stella, CASTRILLÓN Díaz Luis Eduardo, GARCÍA Ayala Ernesto, MENDOZA Castellanos Alfonso, 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.

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.

SOCIEDAD ESPAÑOLA DE GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA, Sociedad Española de Citología y Asociación Española de Patología cervical y Colposcópia. La Infección por papilomavirus.2002 p.9, 21-26, 33-38 50

MARINO, Marmolejo Erika Nahomy. Expresión de Receptores Notch y Detección de Virus de Papiloma Humano en Cáncer Cervicouterino: Tesis de Maestría en ciencia en Biología Molecular. Instituto potosino de Investigación y Tecnología: México.2005. p. 18-20

ASAGIO, Premio Beca 2004. Relaciones causales entre el virus de papiloma humano y el cáncer de cérvix. p. 22-24

COTRAN, Ramzi; KUMAR, Vinay y COLLINS, Tucker. Patología Estructural y Funcional. 6 Ed. McGrawHill, p. 1078

WELL, M. et al Pathology and Genetics of Tumours of the Breast and Female

Genital Organs. Chapter 5, Tumours of the Uterine Cervix. Lyon, 2003. p. 263.

SANCHEZ, Miguel. Servicio de Anatomía Patológica Laboratorio de Patología Molecular Hospital Universitario Materno Infantil de Gran Canaria. Biocáncer 1, 2004 p. 10-11

BIBBO, Marluce. Comprehensive Cytopathology. 2 ed. Philadelphia: Saunders, 2000, p. 143-145-146-147

LACRUZ, Pelea Cesar. Nomenclatura de las lesiones cervicales (de Papanicolau a Bethesda 2001). Revista Española de Patología Vol.36, Madrid 2003, p. 7.

LATARJER, M. y RUIZ, Liard A. Anatomía Humana. Argentina: Medica Panamericana, 1983 p 1784 - 1787

Norma técnica para la detección temprana del cáncer de cuello uterino y guía de atención de lesiones preneoplásicas de cuello uterino. Resolución numero 00412 DE 2000 Actualización 23 de Junio de 2006 <http://medicosgeneralescolombianos.com/Ca_Cuello_Uterino.htm> 25 junio 2006

MELO, Ala Angélica. Et at. Estudio comparativo de detección del virus papiloma humano (VPH) en muestras citológicas y biopsias de cuello uterino. Revista médica de Chile. ISSN 0034-9887 versión impresa Rev. méd. Chile v.133 n.6 Santiago jun. 2005 <http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0034-98872005000600003&script=sci_arttext > Mayo 2006

Vanguardia Liberal. Entrevista a Nubia Muñoz. Junio 2006

Tratamiento Digital de Imágenes. Curso interactivo. Coordenadas del Color.

Modelos de Color. Capitulo 6. Available from World Wide Web: <http://campusvirtual.uma.es/tdi/www_netscape/TEMAS/Tdi_02/index4.php#6.6%20Modelo%20HSI>. Febrero 15 2006

WESTLAND, Sthepen. Qué es el espacio de color CIE L*a*b*, 2001. Available from World Wide Web: <<http://www.gusgsm.com/faqcolor/cielab.html>> Febrero 2006

PRESUTTI, Miriam. La matriz de co-ocurrencia en la clasificación multiespectral, tutorial para la enseñanza de medidas texturales en cursos de grado universitario, Universidad Nacional de La Plata Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales Departamento de Ambiente y Recursos Naturales. Available from World Wide Web: <http://www.inpe.br/unidades/cep/atividadescep/jornada/programa/t-9_trab_27.pdf> Mayo 2006.

NTO Nuevas Tecnologías Observacionales. Procesamiento de Imágenes. <http://www.nto.org/curso/procesa.html> Marzo 2006

PORTA, Paulo. Técnicas de filtrado, viernes, 16 de septiembre de 2005. <<http://www.quesabesde.com/camdig/articulos.asp?articulo=137>> Marzo 2006

HANBURY Allan; and SERRA Jean. A 3D-polar Coordinate Colour Representation Suitable for Image Analysis. PRIP-TR-77 December 16, 2002. <<http://www.prip.tuwien.ac.at/ftp/pub/publications/trs/tr77.pdf>> Febrero 2006

HANBURY Allan; and SERRA Jean. Mathematical Morphology in the HLS Colour Space. <http://cmm.ensmp.fr/~serra/communications_pdf/C-68.pdf> Abril 2006

_____. Mathematical morphology in the L*a*b* colour space. 30 August 2001, some corrections made 25 October 2002. Available from World Wide Web: <http://www.prip.tuwien.ac.at/~hanbury/MM_Lab_space.pdf > Abril 2006

ANGULO Jesús; and SERRA Jean. Segmentación de Imágenes en Color utilizando Histograms Bi-Variables en Espacios Color Polares Luminancia/Saturación/Matiz [Image Color Segmentation using Bi-variate Histograms in Luminance/Saturation/Hue Polar Color Space]. Centre de Morphologie Mathématique, Ecole des Mines de Paris 35, rue Saint-Honoré, 77305 Fontainebleau, Francia. Recibido en mayo 20,2003; aceptado en marzo 25, 2005. <<http://www.ejournal.unam.mx/compuysistemas/vol08-04/CYS08405.pdf>> Marzo 2006.

Medidas de Objetos y Caracterización de regiones. Tema 7. <<http://www1.us.es/pautadatos/publico/asignaturas/16898/9047/Tema%207%20Descriptores.pdf>> Julio 2006

MERY, Domingo. Classification of potential defects in the automatic inspection of aluminium castings using statistical pattern recognition. Departamento de Ingeniería Informática. Universidad de Santiago de Chile. <<http://www.ndt.net/article/ecndt02/232/232.htm> > Junio 2006

_____. Extracción de Características. Departamento de Ciencia de la Computación. Universidad Católica de Chile. <<http://www.ing.puc.cl/~dmery>> Mayo 2006

Procesamiento de Imágenes. <<http://www.itc.nl/external/unesco-rapca/Casos%20de%20estudios%20SIG/02%20Sensores%20remotos/sensores%20remotos.pdf> >. Mayo 2006

Binarea. Descripción del proceso unificado de desarrollo de software. <http://www.binarea.net/descargas/binarea_introduccion_proceso_unificado.pdf > Julio 2006

GARCÍA Pérez, David. Tratamiento Computacional de Imágenes. Procesado local mediante máscaras. <<http://gva1.dec.usc.es/~antonio/docencia/2005tci/practica/apuntes-practica-3.pdf> > Julio 2006

CASTRO Gil, Robin Alberto. Estructura básica del proceso unificado de desarrollo de software. Fecha de recepción: 13-01-2004 Fecha de aceptación: 14-04-2004 <http://www.icesi.edu.co/es/publicaciones/publicaciones/contenidos/sistemas_teleomatica/3/rcastro_estructura-bas-puds.pdf> Julio 2006

Proceso Unificado para Desarrollo de Software (RUP). Laboratorio III de Electrónica 07/05/01 Anotaciones RUP <<http://atenea.ucauca.edu.co/~gramirez/archivos/AnotacionesRUP.pdf> > Julio 2006

Reconocimiento de Patrones Espaciales y cambios temporales. <http://146.83.41.79/profesor/jhp/carto/Patrones_cambios.pdf> Julio 2006

SUCAR, L. Enrique. Digital Image Processing, Color Image Processing, Class 5 < ccc.inaoep.mx/~esucar/Imagenes/c04-filter.prn.pdf > Enero 2006

Definición de la terminología de colores. Id del artículo: 292275. Última revisión: viernes, 28 de abril de 2006 Versión:4.0. <<http://support.microsoft.com/default.aspx?scid=kb;es;292275>> 30 Abril 2006

Seminario de Imagen y Sonido Digital. El sentido de la vista. <<http://pub.ufasta.edu.ar/SISD/vision/cie.htm> > Mayo 2006

Fundamentos de Morfología matemática. Procesamiento Morfológico de Imágenes en color. Aplicación a la Reconstrucción geodésica. Capitulo 3. <http://descargas.cervantesvirtual.com/servlet/SirveObras/57915842105571617400080/008591_3.pdf> Abril 2006

Operaciones Morfológicas en Imágenes Binarias, Primera parte. Universidad Nacional de Quilmes – Ingeniería en Automatización y Control Industrial Cátedra: Visión Artificial Agosto de 2005 <<http://iaci.unq.edu.ar/Materias/vision/archivos/apuntes/Operaciones%20Morfol%C3%B3gicas%20en%20Im%C3%A1genes%20Binarias%20-%20parte%201.pdf>> Abril 2006

Segmentación. Unid 751 a 754. <<http://www.itapizaco.edu.mx/paginas/ttm/unid751.html>> Mayo 2006

Curso de Tratamiento Digital de Imágenes Técnicas de filtrado espacial. <<http://www.tsc.uc3m.es/~jcid/cursotdi/fourier/mascara/index.html>> Febrero 2006

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>> Marzo 2006

MOSQUERA, González Antonio. Procesado Morfológico Tratamiento Computacional de Imágenes. <<http://gva1.dec.usc.es/~antonio/docencia/20042005tci/teoria/procesadomorfológico/ProcesadoMorfológico.html>> Marzo 2006.

MUÑOZ, Nubia. Estado actual de las vacunas profilácticas. El papel del VPH en la prevención del cáncer de cuello uterino. Lyon, Francia: Canarias Julio 2005.

<<http://www.rticcc.com/formacion/fuerteventura-patologia/temas/ppt/nubia-munoz-pdf-2.pdf> > Abril 2006

_____Las causas del cáncer cervical. Diapositiva 3. <<http://www.rticcc.com/formacion/fuerteventura-patologia/temas/ppt/nubia-munoz-pdf.pdf> > Abril 2006

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.

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

ANEXO A. CLASIFICACIÓN DE LESIONES PREMALIGNAS

AÑOS 1959 - 1969 (REAGAN)	AÑOS 1959 - 1969 (RICHART)	AÑOS 1990 – HOY (BETHESDA)
Displasia Leve	NIC I	(+ VPH) SIL Bajo Grado
Displasia Moderada	NIC II	SIL Alto Grado
Displasia Severa	NICIII	
Carcinoma In Situ		

Tabla 14. Clasificación de las lesiones premalignas del cuello

ANEXO B. COMPARACIÓN INCIDENCIA Y MORTALIDAD DE LOS TIPOS DE CÁNCER

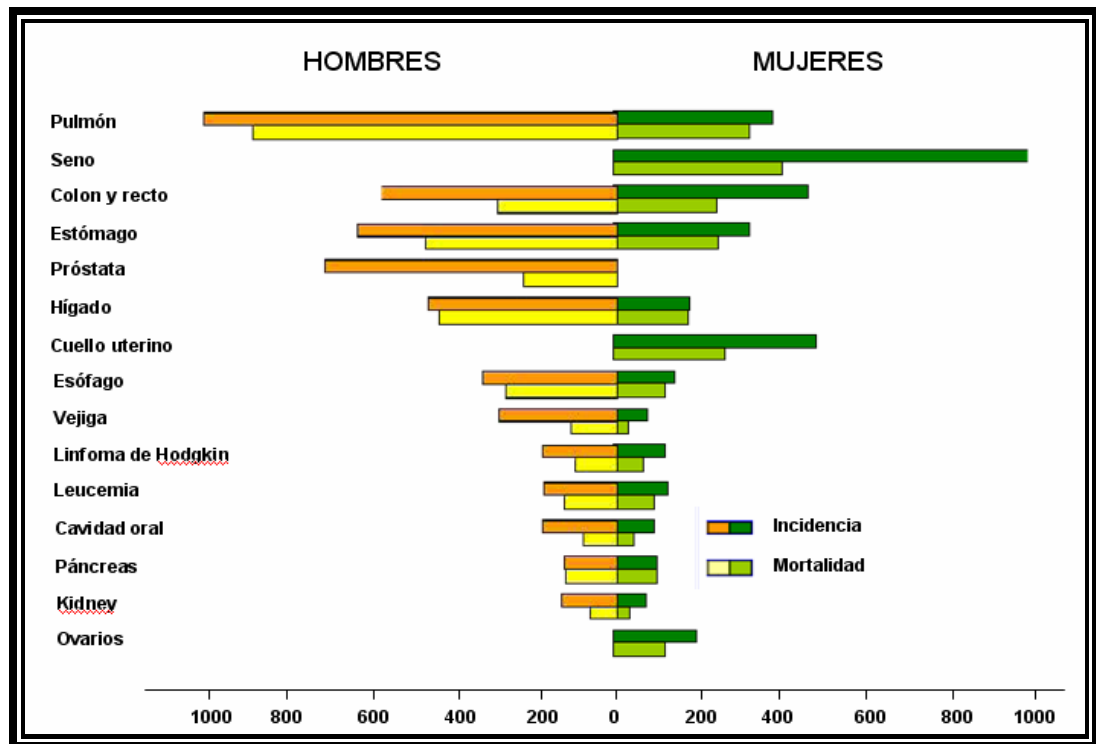


Figura 79. Comparación incidencia y mortalidad de diferentes tipos de Cáncer en hombres y mujeres.

⁵³ MUÑOZ, Nubia. Estado actual de las vacunas profilácticas. El papel del VPH en la prevención del cáncer de cuello uterino. Lyon, Francia: Canarias Julio 2005. <<http://www.rticcc.com/formacion/fuerteventura-patologia/temas/ppt/nubia-munoz-pdf-2.pdf> >

**ANEXO C. VALORES MUESTRA USADOS EN EL ENTRENAMIENTO DE LA
RED NEURONAL PARA DISTINCIÓN DE UNIFORMIDAD EN LA CROMATINA
DEL NÚCLEO**

Célula	ENTRADAS					SALIDA
	Entropía	Varianza I	Varianza J	DesStan I	DesStan J	
1	2.87448	117.95	119.415	10.8605	10.9277	-1
2	2.90810	185.089	184.084	13.6048	13.5678	-1
3	2.99118	194.689	182.861	13.9531	13.5262	-1
4	2.78155	96.7398	86.6563	9.83564	9.30894	+1
5	2.59789	62.4382	61.2142	7.90179	7.822395	+1
6	3.02439	300.513	302.643	17.3353	17.3966	-1
7	2.78596	96.9283	91.5094	9.84522	9.56605	+1
8	2.60466	63.7864	68.6257	7.98664	9.29010	+1
9	2.95227	130.902	131.002	11.4412	11.4456	-1
10	2.78273	167.162	161.581	12.9291	12.7114	-1
11	2.64407	69.1936	69.1515	8.31827	8.31574	+1
12	2.40551	27.8012	27.4536	5.27269	5.23962	+1
13	2.82413	156.725	161.373	12.519	12.733	-1
14	2.70999	64.4288	62.6313	8.02675	7.9231	+1
15	2.39950	28.4103	26.7111	5.7379	5.16828	+1
16	2.86761	161.567	153.658	12.7109	12.3950	-1
17	2.81764	147.206	140.483	12.328	11.8526	-1
18	2.57358	62.1901	61.4648	7.88607	7.83995	+1
19	3.07624	361.174	357.667	19.0046	18.9124	-1
20	2.53867	45.2578	46.4423	6.87443	6.81143	+1

Tabla 15. Ejemplo de datos usados para entrenamiento de la red del núcleo
(Cromatina Uniforme)

**ANEXO D. VALORES MUESTRA USADOS EN EL ENTRENAMIENTO DE LA
RED NEURONAL PARA DISTINCIÓN DE UNIFORMIDAD EN LA COLORACIÓN
DEL NÚCLEO**

Célula	ENTRADAS			SALIDA
	Homogeneidad	Contraste	Disimilaridad	
1	0.18143	12.3107	2.74673	+1
2	0.17438	13.3856	2.86302	+1
3	0.12271	38.0389	4.74580	-1
4	0.18385	10.1492	2.50105	+1
5	0.17323	14.0669	2.89680	+1
6	0.12664	33.1008	4.55133	-1
7	0.11738	57.6578	5.47924	-1
8	0.19169	10.8607	2.58040	+1
9	0.17438	13.3856	2.86302	+1
10	0.11592	50.9573	5.56092	-1
11	0.11876	42.1570	5.12025	-1
12	0.16335	20.3537	3.40394	+1
13	0.09565	64.7424	6.31644	-1
14	0.14595	24.1077	3.80031	-1
15	0.11914	44.7821	2.99492	-1
16	0.13874	30.418	4.24140	+1
17	0.11193	40.032	4.99443	-1
18	0.1389	23.6626	3.85126	+1
19	0.10087	55.3783	5.79436	-1
20	0.11493	44.2951	5.09706	-1

Tabla 16. Ejemplo de datos usados para entrenamiento de la red del núcleo (uniformidad en la coloración)

ANEXO E. COMPORTAMIENTO DE LAS REDES NEURONALES DURANTE EL ENTRENAMIENTO



Figura 80. Comportamiento de la red empleada para distinción de uniformidad en la cromatina del núcleo

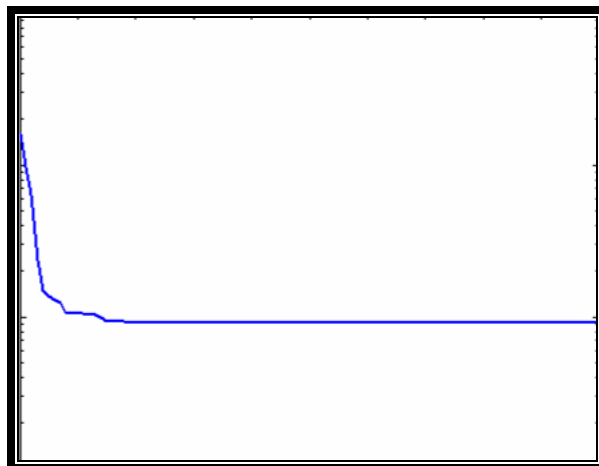


Figura 81. Comportamiento de la red empleada para distinción de uniformidad en la coloración del núcleo