

DIAGNOSIS NIC 3: SOFTWARE PARA LA CONTRIBUCIÓN AL
DIAGNÓSTICO EN CITOLOGÍA CERVICO UTERINAS DE CÉLULAS
ESCAMOSAS QUE PRESENTAN CAMBIOS DE NEOPLASIA
INTRAEPITELIAL CERVICAL III (NIC III), POR MEDIO DE
TRATAMIENTO DIGITAL DE IMAGENES.

CAROL PAOLA GALVIS MÉNDEZ
RAQUEL SOFIA RAMÍREZ GONZÁLEZ

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

DIAGNOSIS NIC 3: SOFTWARE PARA LA CONTRIBUCIÓN AL
DIAGNÓSTICO EN CITOLOGÍA CERVICO UTERINAS DE CÉLULAS
ESCAMOSAS QUE PRESENTAN CAMBIOS DE NEOPLASIA
INTRAEPITELIAL CERVICAL III (NIC III), POR MEDIO DE
TRATAMIENTO DIGITAL DE IMAGENES.

CAROL PAOLA GALVIS MÉNDEZ
RAQUEL SOFIA RAMÍREZ GONZÁLEZ

Trabajo de Grado para Optar al Título de
Ingeniero de Sistemas

Director:
Alfonso Mendoza Castellanos
Bachelor of Science DEA.

Codirector:
Ernesto García Ayala. MD.
Especialista en Patología

Codirector:
Olga Mercedes Álvarez Ojeda MD.
Especialista en Patología

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

AGRACECIMIENTOS

Al profesor Mendoza por creer en nosotras, por sus enseñanzas, su apoyo y amistad incondicional.

Al Dr. Ernesto García por la iniciativa y apoyo.

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

A nuestras familias por su amor, confianza y darnos la fortaleza para cumplir esta gran meta profesional.

A nuestros compañeros del Grupo de Investigación por su amistad, paciencia y colaboración.

A todos nuestros amigos, porque cultivar una verdadera amistad requiere dedicación y tiempo.

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	20
1. PRESENTACIÓN DEL PROYECTO	22
1.1 OBJETIVOS.....	22
1.1.1 Objetivo General	22
1.1.2 Objetivos Específicos	22
1.2 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA.....	22
1.3 IMPACTO ESPERADO	25
1.4 VIABILIDAD	26
2. MARCO TEORICO	27
2.1 TUMORES DE CÉRVIX UTERINO	27
2.2 EPIDEMIOLOGÍA	27
2.3 ETIOLOGÍA	28
2.4 ANATOMÍA DEL CUELLO UTERINO	29
2.5 TOMA DE LA CITOLOGÍA CERVICOVAGINAL.....	32
2.6 CLASIFICACIÓN CELULAR	34
2.7 NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL.....	37
2.7.1 Grados de Neoplasia Intraepitelial Cervical	39
3. CLASIFICACIÓN SEGÚN BETHESDA 2001	42
3.1 NEGATIVO PARA LESIÓN INTRAEPITELIAL O MALIGNIDAD (NLIM).	43
3.1.1 Microorganismos.....	43
3.1.1.1 Otros Hallazgos No Neoplásicos	44
3.2 OTROS HALLAZGOS.....	44
3.2.1 Anomalías de Células Epiteliales	44
3.2.1.1 Células Escamosas	44
3.2.1.2 Células Escamosas Atípicas (ASC).....	44
3.2.1.3 Lesión Escamosa Intraepitelial (SIL)	47

3.2.1.3.1 Lesión Escamosa Intraepitelial de Bajo Grado (LSIL).....	47
3.2.1.3.2 Lesión Escamosa Intraepitelial de Alto Grado (HSIL).....	49
3.2.1.3.2.1 Tipos de HSIL que pueden pasar inadvertidos	51
3.2.1.3.3 Carcinoma Escamoso.....	52
3.2.1.3.3.1 Carcinomas Infiltrantes de Células Escamosas	52
3.3 NOMENCLATURA DE PRECURSORES Y TUMORES ESCAMOSOS	55
4. TRATAMIENTO DIGITAL DE IMÁGENES	56
4.1 FUNDAMENTOS	56
4.2 ETAPAS FUNDAMENTALES DEL PROCESAMIENTO DE IMÁGENES	56
4.2.1 Adquisición de la Imagen	57
4.2.2 Preprocesamiento	57
4.2.2.1 Mejora por procesamiento de punto	57
4.2.2.1.1 Negativos de imágenes	57
4.2.2.1.2 Aumento del contraste	58
4.2.2.1.3 Histograma de una Imagen.....	58
4.2.2.1.4 Ecualización de un Histograma	58
4.2.2.2 Métodos en el dominio espacial	59
4.2.2.2.1 Filtros suavizantes	59
4.2.2.2.1.1 Filtro Espacial Pasa – Bajo	60
4.2.2.2.2 Filtros realzantes.....	60
4.2.2.2.2.1 Filtro Espacial Pasa - Alto	60
4.2.2.3 Método del dominio frecuencial	61
4.2.2.3.1 Filtro Frecuencial pasa - bajo.....	62
4.2.2.3.2 Filtro Frecuencial Pasa-Alto.....	63
4.2.2.4 Modelos de Color	64
4.2.2.4.1 Modelo RGB	64
4.2.2.4.2 Modelo CMY	65
4.2.2.4.3 Modelo XYZ	65
4.2.3 Segmentación.	69
4.2.4 Descripción	70

4.2.5 Reconocimiento e Interpretación.....	72
5. DESARROLLO DEL MODELO COMPUTACIONAL.....	73
5.1 METODOLOGÍA.....	73
6. ADQUISICIÓN.....	77
7. PREPROCESAMIENTO.....	79
7.1 TRANSFORMACIONES DE COLOR.....	80
7.1.1 Espacio de Color CIE L*a*b*.....	80
7.1.2 Modelo de Color HSV.....	81
8. SEGMENTACIÓN.....	84
8.1 ALGORITMOS DE SEGMENTACIÓN.....	84
8.1.1 Método PUN-KAPUR.....	84
8.1.2 Método Iterativo.....	85
8.2 MÉTODO DE ITERACIÓN DEL PUNTO FIJO (FPI).....	86
8.2.1 Método ISODATA.....	88
8.3 MORFOLOGÍA MATEMÁTICA.....	89
8.3.1.1.1 Dilatación Binaria ($\square$).....	90
8.3.1.1.2 Erosión Binaria ($\square$).....	90
8.3.1.1.3 Apertura (opening).....	90
8.3.1.1.4 Cierre (closing).....	91
9. DESCRIPTORES.....	92
10. RECONOCIMIENTO E INTERPRETACIÓN.....	94
10.1 SISTEMA BASADO EN CONOCIMIENTO.....	94
10.1.1 Estructura de un Sistema Basado en el Conocimiento:.....	95
11. BASE DE DATOS.....	97
12. MODELO COMPUTACIONAL.....	99
13. RESULTADOS.....	101
14. CONCLUSIONES.....	104

15. RECOMENDACIONES	106
BIBLIOGRAFÍA.....	107
ANEXOS	12213

LISTA DE TABLAS

	Pág
Tabla 1. Tipos de Carcinomas Infiltrantes.	54
Tabla 2. Resumen de modelos de color.	70

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Cuello Uterino	31
Figura 2. Unión Escamocolumnar.	32
Figura 3. Unión Escamocolumnar o Escamocilíndrica (UEC).	33
Figura 4. Cepillo Endocervical con mango estriado, 20 cm. de longitud.	35
Figura 5. Bajalenguas.	35
Figura 6. Maduración de células escamosas por capas.	36
Figura 7. Células Basales.	37
Figura 8. Células Parabasales.	37
Figura 9. Células Intermedias.	38
Figura 10. Células Superficiales.	38
Figura 11. Displasia leve (NIC I).	41
Figura 12. Displasia Moderada (NIC II).	42
Figura 13. Displasia leve (NIC III).	42
Figura 14. Comparación entre las cuatro clasificaciones entre las células escamosas.	45
Figura 15. ASC-US de mujer premenopáusica que sugiere LSIL (por VPH).	47
Figura 16. ASC-H Mujer de 48 años con células hipercromáticas. En el seguimiento su diagnostico fue NIC II.	48
Figura 17. Mujer de 32 años. Células con halos perinucleares.	50
Figura 18. Mujer de 22 años diagnosticada con NIC I.	50
Figura 19. HSIL. Las células displásicas que se observan en un grupo sincitial o en un grupo hipercromático denso.	52
Figura 20. Células con Lesión Queratinizante.	52
Figura 21. HSIL de pequeñas células.	53
Figura 22. HSIL.	53
Figura 23. Carcinoma escamoso queratinizante.	55
Figura 24. Carcinoma escamoso no queratinizante.	56
Figura 25. Etapas fundamentales del procesamiento digital de Imágenes.	59
Figura 26. Histogramas correspondientes a cuatro tipos básicos de imágenes.	60
Figura 27. Forma de la función de un filtro suavizante.	61
Figura 28. Forma de la función de un filtro realzante.	62
Figura 29. Ejemplo de una imagen de Células Intermedias el respectivo Espectro de Fourier.	63
Figura 30. Funcionamiento del Filtrado Frecuencial	64
Figura 31. Dibujo en perspectiva de un filtro pasa bajo y su sección transversal radial.	65
Figura 32. Dibujo en perspectiva de un filtro pasa alto.	65
Figura 33. Representación cúbica del modelo RGB normalizado a 1.	66

Figura 34. Representación gráfica de colorimetría por la Comisión Internacional de Iluminación (CIE) 1931.	68
Figura 35. Diagrama cromático xy según estándar de la CIE..	69
Figura 36. Espacios de Color y su obtención dependiendo del modelo RGB.	70
Figura 37. Histograma bimodal.	71
Figura 38. Fases y Flujos de trabajo.	76
Figura 39. Diagrama Casos de Uso.	77
Figura 40. Diagrama del Modelo de análisis.	78
Figura 41. Imagen de NIC III registradas para el proyecto.	79
Figura 42. Espacio de color CIELAB.	82
Figura 43. Diagrama representativo del modelo de color HSV.	83
Figura 44. Diferentes transformaciones de color aplicadas.	84 - 85
Figura 45. Núcleo segmentado con el método de Pun-Kapur.	87
Figura 46. Núcleo segmentado con el método Iterativo.	88
Figura 47. Ejemplo del método de Iteración del Punto Fijo.	89
Figura 48. Núcleo segmentado con el método de Iteración del Punto Fijo.	90
Figura 49. Núcleo segmentado con el método de Isodata.	91
Figura 50. Descripción gráfica del proceso de Apertura.	93
Figura 51. Descripción gráfica del proceso de Cierre.	93
Figura 52. Estructura del Sistema Basado en el Conocimiento empleadas en la Base de Datos.	97
Figura 53. Tablas Entidad/Relación empleadas en la Base de Datos.	99
Figura 54. Tabla del Sistema Basado en el Conocimiento.	100
Figura 55. Diagrama del Modelo Computacional.	102
Figura 56. Parámetros de relación Núcleo/Citoplasma de Células NIC III.	104
Figura 57. Parámetros de Núcleo de Células NIC III.	105

LISTA DE ANEXOS

	Pág
ANEXO A. Manual de Usuario.	113
ANEXO B. Requerimientos del Sistema.	124

GLOSARIO

AGREGADO SINCITIAL: Células dispuestas en Sincitios.

ANISOCARIOSIS: Variación importante del tamaño del núcleo de las células del mismo tipo general.

ATRÓFICO: Desaparición o disminución del tamaño o la actividad fisiológica de una parte del cuerpo como consecuencia de una enfermedad o por otras causas.

BACILOS DE DODERLEIN: Las bacterias (gérmenes) presentes normalmente en la vagina.

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

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

CANDIDIAS: Infección de la piel provocada por hongos que puede desarrollarse en los pliegues de la piel, el ombligo, la vagina, el pene, la boca y la matriz de las uñas.

CARCINÓGENOS: Un agente tanto físico, químico como biológico que puede actuar sobre los tejidos vivos de tal forma que produce cáncer.

CARCINOMA ESCAMOSO: Término descriptivo para tumor, cuyas células tienen apariencia escamosa.

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

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

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

CIANÓFILO: Coloración azul o violeta de la membrana celular.

CITÓLISIS: Destrucción o lisis de las células.

CITOLOGÍA: Es el estudio de las células individuales.

CITOPATOLOGÍA: Rama conocida que se dedica a cambios celulares.

CLAMIDIA: Es una enfermedad de transmisión sexual causada por la bacteria *Chlamydia trachomatis*.

COILOCITO: Es una célula intermedia de epitelio escamoso, que presenta una gran vacuola clara plerínuclear óptimamente vacía, que a veces contiene un material sucio grisáceo.

COLPOSCOPIA: Es un procedimiento ginecológico que se realiza normalmente para evaluar a la paciente con resultados anormales en la prueba de papanicolaou. El colposcopio es una especie de telescopio de enfoque próximo que permite al médico ver con detalle regiones anormales del cuello uterino, a través de la vagina, por lo que es posible extraer una biopsia del área anormal y enviarlo al patólogo.

CONDILOMAS: Verrugas localizadas en el ano o en su periferia. Son secundarias a infección por virus y su mecanismo de contagio es a través de contacto sexual.

CONTRASTE: Diferencia que existe entre claros y oscuros.

CONVOLUCIÓN: Es una operación de vecindades en la cual cada píxel de salida es la suma ponderada de los píxeles de la vecindad de entrada.

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

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

FIRMA DE NÚCLEO: Función unidimensional del contorno nuclear.

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

GARDNERELLA VAGINALIS: Bacilo gramnegativo presente en vaginitis y uretritis inespecíficas.

GRUMOSIDAD: Alteración en la distribución de la cromatina.

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

HISTERECTOMÍA: Extirpación del útero por vía abdominal o vaginal.

HISTIOCITOS: Son células del sistema inmune que ingieren antígenos extraños para proteger contra una infección. Dichas células están fijas, es decir, permanecen en una parte del cuerpo, en lugar de viajar a través del torrente sanguíneo.

HISTOPATOLOGÍA: Es la identificación al microscopio de una estructura y estudio de tejidos y procesos patológicos.

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

LACTOBACILOS: Grupo de bacilos no patógenos granpositivos, que producen ácido láctico a partir de carbohidratos. Varias especies pertenecientes de este género se encuentran en el tracto intestinal y vagina.

MÁSCARA: Es una pequeña matriz bidimensional, en la que los valores de los coeficientes determinan la naturaleza del proceso, como la acentuación de los bordes o eliminación de ruidos.

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

MITÓTICO: Cualquier división celular atípica, asimétrica o multipolar que da lugar a un número desigual de cromosomas en los núcleos de las células hijas. Es sinónimo de malignidad.

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

PICNOSIS: Condensación celular en la que el protoplasma se hace más denso.

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

PLEOMORFISMO: Variación del tamaño y forma de núcleo de una célula. (Neoplasia maligna)

PRUEBA DE PAPANICOLAOU: Se realiza para realizar el diagnóstico de cáncer cérvicouterino. Esta prueba es un examen citológico en que se toman

muestras de células epiteliales, en la zona de transición, del cuello uterino, en busca de atipias celulares que orienten (no diagnostiquen) a la presencia de una posible neoplasia de cuello uterino.

QUERATINA: Proteína producida por la epidermis, forma la capa córnea y es especialmente sensible a los agentes muy alcalinos.

QUERATINOCITOS: Célula epidérmica que sintetiza la queratina y otras proteínas y esteroides.

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

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

RESOLUCIÓN: Grado de detalle discernible de una imagen.

SISTEMA BASADO EN EL CONOCIMIENTO: Sistemas informáticos que involucran conocimiento propio de especialistas.

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

TARJETA DE ADQUISICIÓN: Convierte la señal de salida del sistema sensible a forma digital.

TRICOMONAS VAGINALIS: Es un parásito microscópico que se encuentra en todo el mundo. La infección causada por tricomonas se denomina tricomoniasis. La tricomoniasis es una de las infecciones por transmisión sexual más común, que afecta principalmente a mujeres de entre 16 y 35 años de edad.

VACUOLIZACIÓN: Capacidad de generar un espacio claro o cavidad dentro de una célula.

VAGINITIS: Inflamación-infección de la vagina.

VAGINOSIS BACTERIANA: Vaginitis por bacterias generalmente producida por Gardnerella.

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

RESUMEN

TITULO DIAGNOSIS NICIII. SOFTWARE PARA LA CONTRIBUCIÓN AL DIAGNOSTICO EN CITOLOGÍA CERVICO UTERINAS DE CÉLULAS ESCAMOSAS QUE PRESENTAN CAMBIOS DE NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL III (NIC III), POR MEDIO DE TRATAMIENTO DIGITAL DE IMÁGENES*.

Autores:

Carol Paola Galvis Méndez

Raquel Sofía Ramírez González**

Palabras Claves: Tratamiento Digital de Imágenes, Transformaciones de color, Neoplasia Intraepitelial Cervical, Morfología Matemática, Sistema Basado en el Conocimiento, Descriptores, Citología Cervicouterina, Papanicolau.

Descripción: El cuello uterino es propenso a infecciones potencialmente graves,. El cáncer de cérvix es responsable de aproximadamente el 5% de las muertes por cáncer en la mujer . NIC III es de las displasias más asociada a Cáncer Invasivo, por tanto es importante su temprano y preciso diagnostico, teniendo en cuenta características celulares representativas como perdida de la polaridad, disminución de la relación núcleo/citoplasma, hiper cromatismo y grumosidad nuclear, posición celular en hilera india y agregados sincitiales.

En busca de dar soporte al patólogo para disminuir el porcentaje de falsos negativos y falsos positivos, el Grupo de Investigación de Ingeniería Biomédica (GIIB) junto con el departamento de Patología de la Universidad Industrial de Santander realizó una herramienta software que contribuye al diagnostico de un tipo de lesión predecesora del cáncer de cérvix, Neoplasia Intraepitelial Cervical de grado III (NICIII) llamada DIAGNOSIS NICIII. Desarrollada bajo un Proceso Unificado (RUP) , diseñada e implementada en MATLAB 7.2 empleando técnicas del tratamiento digital de imágenes como transformaciones de color, diferentes al modelo RGB, morfología matemática, métodos de umbralización, matrices de co-ocurrencia, descriptores de contorno, un módulo para el sistema basado en el conocimiento. y una base de datos implementada en MYSQL donde se almacenara toda la información clínica y los resultados de los análisis.

El estudio arroja medidas y datos estadísticos aproximados a los valores de las características celulares que presentan NIC III, según el Sistema Internacional de Clasificación Bethesda, indicando que DIAGNOSIS NIC III es preciso dando confiabilidad en el soporte al diagnostico del patólogo

Se recomienda el procesamiento de imágenes tridimensionales para un futuro estudio y un diagnostico mas certero, al igual que el acople de este software a otros con diagnósticos de la misma área en diferentes lesiones.

* Trabajo de Grado

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

ABSTRACT

TITLE: DIAGNOSTICS NICIII SOFTWARE FOR THE CONTRIBUTION TO DIAGNOSIS IN UTERINE CERVICAL CYTOLOGY OF SCALY CELLS THAT PRESENT INTRAEPITELIAL CERVICAL NEOPLASIA CHANGESIII (CIN III), BY MEANS OF DIGITAL IMAGES PROCESSING

*

Authors:

Carol Paola Galvis Méndez

Raquel Sofia Ramírez González**

Key words: Digital images processing, color Models, cervical intraepithelial neoplasia, Mathematical Morphology, Based on knowledge system, Describers, Cervical Cytology.

Description: The neck of the uterus is inclined to infections serious. The cervix is responsible for approximately 5 % of the deaths woman for cancer. Of the displasias, NIC III is more associated with Invasive Cancer, Therefore is important diagnosis early and precise it. Bearing in mind the representative characteristics of cells as: loss of the polarity, decrease of the relation nucleocytoplasm, hyperchromatism and granulars nucleus, position of cells in row Indian.

In search of giving pathologist support for diminish the percentage of negative false and positives false, the Biomedical Engineering Investigation Group (GIIB) and the department of Pathology in Industrial University of Santander development a software tool that contributes to diagnosis for precursor lesions of cervix cancer, Cervical Intraepithelial Neoplasia III (CIN III). Named DIAGNOSIS NICIII. Developed whit a Unified Process (RUP), desenger and implemented in MATLAB 7.2 using techniques of digital images processing change as transformations of color, different the model RGB, mathematical morphology, thresholding methods, co-occurrence matrix, describers of contour and a module for based on knowledge system and a database implemented in MYSQL where all save clinical information and results of the analyses.

The investigation throw measurements and stadistic information with approximate values to characteristics of cells that present NIC III, according to Bethesda of Classification International System, indicating that DIAGNOSTICS NIC III is precise and confiability in the diagnosis support to pathologist.

This project was developed for the, it is based in construction of application, it contributes to diagnosis for precursor lesions of cervix cancer, Cervical Intraepithelial Neoplasia III (CIN III), the intention is established by quantitative and qualitative criterion of the pathologist.

Recommended the three-dimensional images processing for a future study and a diagnosis more accurately, as connect from this software to others with diagnoses of the same area in different lesions.

* Degree work

** Physical-Mechanical Engineering Faculty

Computer Science and Systems Engineering School

Director: Alfonso Mendoza Castellanos

Co directors: Ernesto García Ayala, Olga Mercedes Álvarez.

INTRODUCCIÓN

El software desarrollado para el presente proyecto, permite hacer mediciones y extraer datos que revelen las características de las células de citología cervicouterina que favorezcan Neoplasia Intraepitelial Cervical (NICIII). Esta herramienta es un soporte para el patólogo, ya que permite apoyar un diagnóstico más preciso a este tipo de lesión, y evitar falsos negativos o positivos en el mismo.

Esta lesión puede existir en un estadio no invasivo hasta durante 20 años y eliminar células anormales que pueden detectarse en los exámenes citológicos. Estos cambios precancerosos deben ser vistos teniendo presente que representan unos continuos cambios morfológicos con límites poco claros; no invariablemente progresan a cáncer y pueden regresar de modo espontáneo, y el riesgo de persistencia o progresión a cáncer aumenta con la intensidad del cambio precanceroso; se asocian con virus de papiloma humano (VPH) y se encuentran tipos de VPH de alto riesgo cada vez con mayor frecuencia en los precursores de mayor grado.

El cáncer de cuello uterino es el segundo tumor maligno, encontrado con más frecuencia entre la población femenina. El 80% de mortandad causada por este cáncer se presenta en los países subdesarrollados. Actualmente en Bucaramanga la tasa de incidencia es de 35,7 por cada 10 mil mujeres y aproximadamente solo el 30% de la población acude periódicamente para aplicarse el test de papanicolau o citología, procedimiento para la detección temprana del cáncer.

De las Neoplasias de Cérvix, NIC III es la que se asocia con mayor frecuencia con cáncer invasivo cuando este se identifica. La progresión a carcinoma invasivo, cuando se produce, puede desarrollarse en unos pocos meses a más de 20 años.

En el sistema Internacional de Bethesda 2001 clasifica el NICIII como una Lesión Intraepitelial de Alto Grado, y sus características celulares están definidas por pérdida de la polaridad, disminución considerable de la relación núcleo/citoplasma, núcleos hipercromáticos y grumosos. Adicionalmente, una característica de NICIII y carcinoma in situ la presencia de grupos de células dispuestas en hilera india.

Las imágenes fueron obtenidas con unas condiciones básicas en la adquisición y para ellas fue necesario el siguiente hardware: un microscopio con una configuración específica, este es acoplado a una cámara fotográfica que a su vez se conecta a un computador.

La metodología utilizada en la herramienta esta basada en el Proceso Unificado de Desarrollo, y la caracterización de las imágenes se llevó a cabo

teniendo en cuenta las etapas fundamentales del Tratamiento Digital de Imágenes.

Una técnica muy útil para el desarrollo de aplicaciones con imágenes médicas es la inteligencia artificial, esta nos permite la automatización de tareas que requieran un comportamiento inteligente, no con esto se quiere desplazar el recurso humano, pero es indiscutible la limitación de la percepción visual ya que esta no es infalible y es de gran utilidad tener un soporte para lograr precisar información cuantitativa; mediante un sistema asistido por computadora y obtener un mejor diagnóstico.

En el mercado comercial se puede encontrar software de automatización para el diagnóstico de imágenes médicas; cuyos costos son muy elevados en comparación con los programas realizados en proyectos de investigación por entidades educativas interesadas en aplicar la tecnología en diferentes áreas como la medicina y hacer de la informática una ciencia interdisciplinaria y con impacto social.

1. PRESENTACIÓN DEL PROYECTO

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo General

Caracterizar las células escamosas presentes en citologías cérvico uterinas que cumplen con los rasgos morfológicos y citológicos de Neoplasia Intraepitelial Cervical de alto grado (NIC III) propuestos por el Sistema Internacional de Clasificación Bethesda (Sistema universalmente conocido para la Nomenclatura de informes citológicos y ginecológicos; estándar en laboratorios de patología).

1.1.2 Objetivos Específicos

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

1.2 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

Entre la población mundial femenina, el cáncer de cuello uterino ocupa el segundo lugar de frecuencia presentándose alrededor de 466.000 nuevos casos cada año. De las 231.000 muertes (también anuales) a causa de este cáncer, cerca del 80% ocurre en los países en vías de desarrollo. Esta enfermedad presenta en Colombia una tasa de incidencia informada mundialmente de 32,86 casos por 100 mil habitantes, siendo en el área metropolitana de Bucaramanga de 35,7 por 100 mil habitantes, lo cual nos habla acerca de la magnitud del problema en nuestro medio.

En el período comprendido entre los años de 1983 y 1991, la tasa de mortalidad en Colombia debido a esta patología fue de 6,5 por 100 mil

habitantes. Actualmente, según Profamilia y la Liga contra el Cáncer “es la segunda causa de muerte de cáncer en la mujer colombiana y nuestro país posee una de las más altas tasas de esta enfermedad en el mundo”.

Esta patología es detectable precozmente mediante un examen conocido como citología cérvico uterina. En varios países en vías de desarrollo como Colombia la cobertura que tienen las mujeres para acceder a este examen es muy baja, encontrándose en Bucaramanga en un estudio realizado una cobertura de 34% en el principal grupo de riesgo para la búsqueda de cáncer de cérvix. Además se obtuvo que la prevalencia de lesiones preneoplásicas y neoplásicas del cuello uterino, teniendo en cuenta que los datos de citología son alrededor del 2,16% y de estas un 42% corresponden a ASCUS, un 48% a NIC I, un 5,3% a NIC II, un 3,13% a NIC III (2.13% a displasia severa y un 1% a carcinoma in situ) y un 1% a AGUS, presentan una correlación con el diagnóstico histopatológico solamente en un 48.94%, correspondiendo de estos el 39% a NIC III (13.% a displasia severa y 26% a Carcinoma In Situ). En la población europea la localización tumoral ha mostrado un marcado descenso, atribuido en parte a la extensión de la realización periódica de esta prueba diagnóstica.

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

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

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

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

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

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

Con lo citado anteriormente, no significa que la paciente requiera realizarse tantas citologías como patologías a estudiar, tan solo con una citología es suficiente para obtener la muestra de las células requeridas para el análisis correspondiente.

El presente proyecto macro, 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.^{1 2}

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.

¹ Trisancho 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.

² 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.

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
9. Carcinoma Invasor.
10. Células endometriales en mujer > 40 años.

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

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

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

1.3 IMPACTO ESPERADO

Se espera que las instituciones de salud y los laboratorios de la región puedan utilizar la información suministrada por el proyecto para diseñar planes de control y prevención de cáncer de cuello uterino y elaborar tratamientos efectivos de acuerdo al riesgo, consiguiendo de este modo que las instituciones hagan extensivas sus funciones al controlar y mejorar la calidad de vida de los pacientes.

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

Los resultados obtenidos se configurarán en una herramienta adicional que permitirá una mejor aproximación diagnóstica en aquellos casos en los cuales haya dificultad en el diagnóstico de NIC III siguiendo los parámetros establecidos en el Sistema Bethesda.

1.4 VIABILIDAD

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

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

2. MARCO TEORICO

2.1 TUMORES DE CÉRVIX UTERINO

El cuello uterino es tanto un centinela de infecciones del tracto genital superior potencialmente graves, como una diana de carcinógenos víricos y de otro tipo, lo que puede llevar a carcinoma invasivo. El carcinoma cervical por sí solo es responsable en todo el mundo de aproximadamente el 5% de las muertes por cáncer, catalogándose como el segundo cáncer más común en las mujeres. Más del 80% de las mujeres que mueren a causa del cáncer cervical viven en países en vía de desarrollo. La infección crónica con el Virus del Papiloma Humano (VPH) es un evento necesario en la evolución del carcinoma cervical.

Aunque el carcinoma escamoso de cérvix es, después del cáncer de mama, el más frecuente en la mujer, su frecuencia varia según el nivel de desarrollo socioeconómico, y si bien ha disminuido significativamente durante los últimos 30 años, continúa siendo el tipo de cáncer cervical más común, especialmente en países en subdesarrollados. En el mundo occidental esta disminución se ha debido sobre todo al reconocimiento de lesiones precursoras (NIC) y su detección en fases precoces, esto mediante la efectividad del test citológico de Papanicolaou y a la accesibilidad del cuello uterino a la colposcopia y a la biopsia. Por lo tanto, esta claro que el cribado con extendidos teñidos con Papanicolaou ha aumentado la detección de cánceres potencialmente curables y la detección y erradicación de lesiones preinvasivas, algunas de las cuales progresarían a cáncer en caso de no ser descubiertas.

2.2 EPIDEMIOLOGÍA

En 1990 el cáncer cervical correspondió al 10% de los cánceres para un total de aproximadamente 470.000 casos de cáncer en el mundo, representando el tercer cáncer más común en mujeres y el tumor más común en África Sub-Sahariana, América central, sur de Asia Central y Melanesia. Aproximadamente 230.000 mujeres mueren de cáncer cervical y alrededor de 190.000 son de países en vía de desarrollo. Zimbabwe e India se destaca no sólo por su alto número de casos, sino también por un pronóstico muy desfavorable con respecto a la mortalidad. Puede encontrarse alta incidencia en algunas áreas del Reino Unido y Europa Central

Sin embargo, en mujeres menores de 45 años, las tasas de mortalidad se nivelan o incrementan en varios países. Estable o, en algunos casos, la tendencia de mortalidad ascendente en poblaciones de alto riesgo en América Latina y en áreas del Reino Unido son especialmente preocupantes.

2.3 ETIOLOGÍA

Para el carcinoma escamoso de cérvix se han detectado varios factores de riesgo como la raza, la dieta, la higiene genital, el tabaco, el estado inmunitario así como también la conducta sexual. Existen datos que sugieren que el carcinoma escamoso de cérvix está producido por agentes infecciosos transmitidos sexualmente. De hecho, se ha observado una mayor incidencia en mujeres promiscuas, con compañero con múltiples parejas sexuales, en las prostitutas, y en aquellas quienes el primer contacto sexual tuvo lugar en los primeros años de su juventud. Por otra parte, el cáncer de cérvix es excepcional en monjas y mujeres vírgenes. Estos datos epidemiológicos sugieren que el cáncer de cérvix esta relacionado con un agente oncogénico, probablemente infeccioso y transmitido por vía sexual. En la actualidad se considera que dicho agente es el Virus de Papiloma Humano (VPH), considerándose como el mayor factor etiológico. Existen varios datos que apoyan la relación entre el VPH y el cáncer de cérvix:

- La identificación de DNA del VPH en muchos especímenes de biopsias de cáncer cervical alrededor del mundo.
- Riesgo Relativo por aproximadamente cada 10 mujeres infectadas por VPH en estudios de Cohorte.
- La frecuente demostración de una transición colposcópica e histopatológica entre las lesiones producidas por el VPH y el carcinoma escamoso.
- La presencia de las proteínas de la cápside del VPH y un gran número de lesiones preneoplásicas.
- La presencia de DNA del VPH en la gran mayoría de lesiones preneoplásicas, cánceres y metástasis ganglionares.
- Detección de DNA del VPH por técnicas de hibridación en más del 95% de los cánceres cervicales.

Hasta el momento se han identificado más de 80 subtipos de VPH pero tan solo algunos de ellos se han asociado al cáncer de cérvix. Los más frecuentes son el 16 y 18, asociados a alto riesgo, aunque también se han relacionado los subtipos 31, 33, 35 y 39 y menos frecuentes relacionados a alto riesgo oncogénico los subtipos 40 y 50. En cambio, otros subtipos de VPH como el 6 y 11 son responsables de los condilomas acuminados y de algunas displasias con bajo riesgo de progresión a carcinoma.

El ciclo de VPH en el epitelio escamoso del cérvix está íntimamente ligado al proceso de diferenciación del queratinocito. El VPH transmitido sexualmente infecta las células con capacidad mitótica, es decir, a las células basales. Una vez que la infección ha tenido lugar, el virus puede permanecer latente o replicarse en el interior del núcleo donde se encuentra en forma episómica (no integrada). Sin embargo, en ciertas condiciones no muy bien conocidas aún el genoma viral puede pasar de la situación episómica a integrarse al

genoma de la célula huésped. Como consecuencia de esta integración, el ciclo viral no se completa, la infección no es productiva, y se inician los mecanismos de transformación neoplásica, por tanto, no se producirán proteínas estructurales (intervienen en la producción de las partículas infecciosas) y la célula no tendrá el aspecto colicítico. Además, tiene lugar una transcripción incontrolada de los genes E6 y E7, lo que confiere a la célula una gran capacidad de proliferación. Por otra parte, la inserción del DNA viral en el genoma de la célula huésped interfiere en genes responsables del crecimiento y de la diferenciación celular. Como consecuencia de todo ello la célula epitelial sufre una serie de modificaciones y acaba transformándose en una célula neoplásica. En el momento actual no se sabe con certeza si la acción de los VPH es suficiente para poner en marcha este proceso o si actúan como cocarcinógenos o promotores y requieren ciertos factores adicionales (infecciosos o ambientales). Varios aspectos de la célula huésped y factores ambientales contribuyen, sin embargo, a aumentar la probabilidad de la persistencia del VPH y progreso a la neoplasia cervical. El daño inmunológico, debido a tratamientos inmunosupresivos o al virus de inmunodeficiencia humana (VIH), aumentan el riesgo de neoplasia intraepitelial cervical (NIC) y de cáncer invasivo de la cérvix.

Entre las mujeres con DNA de VPH positivo se encuentran las que usan por largo tiempo anticonceptivos orales, tienen alta paridad, fumadoras de tabaco, presentan infecciones de transmisión sexual como: Herpes tipo 2, Clamidia Trachomatis, asociadas con un riesgo relativo entre 2 y 4.

2.4 ANATOMÍA DEL CUELLO UTERINO

El cuello uterino está compuesto por dos zonas: el exocérnix, la zona más distal que limita con el extremo superior de la vagina y el endocérnix, que se extiende hasta el istmo uterino. El epitelio cilíndrico reviste al conducto endocervical, y el epitelio escamoso recubre la superficie del exocérnix. El punto en el cual se unen estos dos epitelios se denomina *Unión Escamocolumnar o Escamocilíndrica (UEC)*.

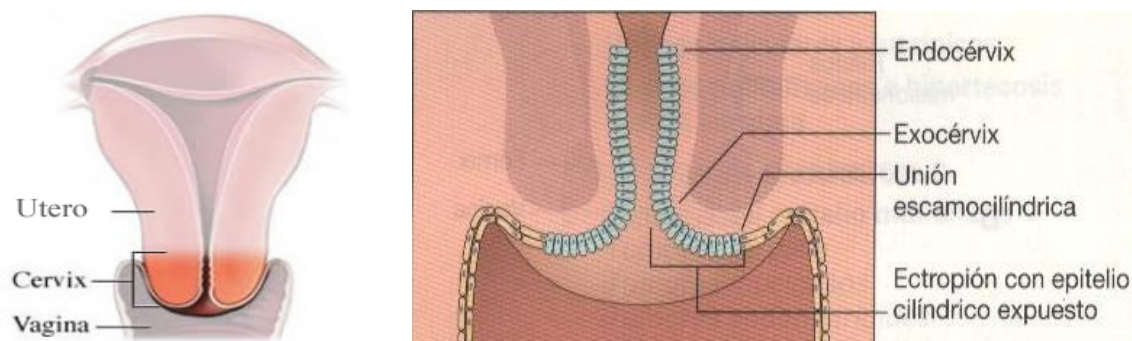


Figura 1. Cuello Uterino

La UEC queda restringida a la boca cervical externa. Sin embargo, es un punto dinámico que cambia como reacción a la pubertad, embarazo, menopausia y estimulación hormonal. En la niña recién nacida la UEC se encuentra localizada en el exocérnix. En el momento de la menarquía la producción de estrógenos hace que el epitelio vaginal se llene de glucógeno. Los lactobacilos actúan sobre el glucógeno al PH que ellos mismos producen, lo que estimula a las reservas de células subcilíndricas para que experimenten metaplasia. La *metaplasia*, que es la sustitución del epitelio glandular endocervical por otro de tipo escamoso en respuesta a diversos estímulos (pH, endocrinos, trauma, inflamación, etc.) progresa desde la UEC original al interior, en dirección hacia la boca externa, y sobre los pliegues cilíndricos. Este proceso establece un área llamada *zona de transformación* (ZT).

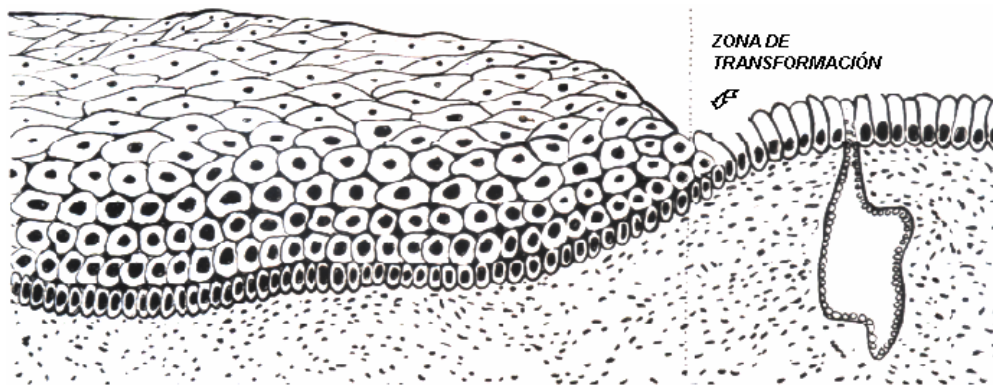


Figura 2. Unión Escamocolumnar.

Esta área se extiende desde la UEC original hacia la UEC fisiológicamente activa. Conforme madura el epitelio metaplástico en la zona de transformación, empieza a producir glucógeno y acaba por parecerse desde los puntos colposcópico e histológico al epitelio escamoso original. En la edad reproductora la UEC se sitúa por fuera del orificio exocervical mientras que en la menopausia asciende hasta el interior del canal endocervical.

Se cree que la mayor parte de los casos, la Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC) se origina en la llamada zona de transformación de la UEC que avanza. El labio anterior del cuello uterino tiene el doble de probabilidades de desarrollar NIC en comparación con el labio posterior, y es raro que la NIC se origine en los ángulos laterales. Una vez se ha producido una NIC puede progresar en sentido horizontal para abarcar toda la ZT. Este proceso suele ocasionar una NIC con borde externo definido. En sentido proximal a la NIC abarca los surcos cervicales, y esta zona tiende a experimentar las lesiones de NIC más graves. La extensión de afección de estas glándulas cervicales tiene implicaciones terapéuticas importantes, porque debe destruirse toda la glándula para garantizar la eliminación de la Neoplasia Intraepitelial Cervical.

Una vez que el epitelio metaplástico madura y produce glucógeno, se denomina *zona de transformación curada*, y es relativamente resistente a los estímulos oncogénicos. Sin embargo, toda la UEC con células metaplásticas tempranas es más susceptible a los factores oncogénicos que pueden hacer que estas células se transformen en Neoplasia Intraepitelial Cervical. Por tanto, la NIC tiende más a iniciarse durante la menarquia o después del embarazo, época en que es más activa la metaplasia. A la inversa, la mujer que ha llegado a la menopausia sin desarrollar NIC tiene poca metaplasia y está en menor riesgo.

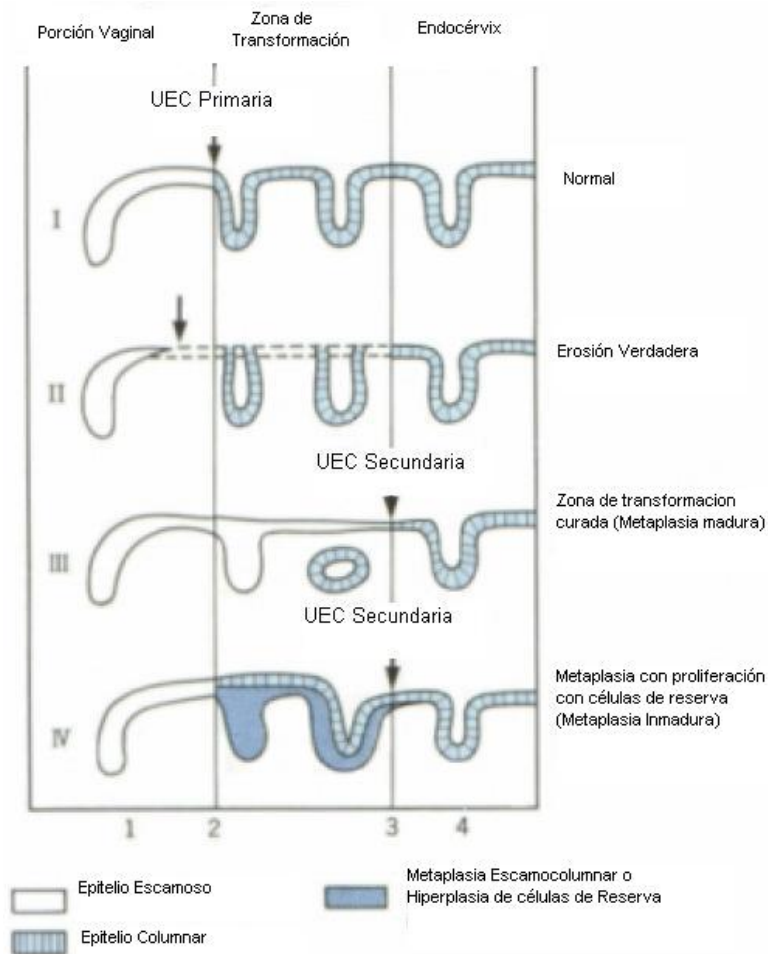


Figura 3. Unión Escamocolumnar o Escamocilíndrica (UEC)

2.5 TOMA DE LA CITOLOGÍA CERVICOVAGINAL

La citología cervicovaginal (triple toma) por el método de PAPANICOLAOU (implantada de forma general en la década de los años 50), sigue siendo hoy día el método más útil y barato para el estudio de las lesiones escamosas preinvasoras (displasia y carcinoma “in situ”) de cérvix. El médico americano de origen griego GEORGE PAPANICOLAOU, mientras estudiaba la maduración hormonal de la mucosa vaginal, descubrió que se podía identificar células tumorales en el flujo vaginal de mujeres con cáncer de cérvix. Papanicolaou publicó su estudio en el año 1.928 en USA, siendo muy limitada su aceptación por la comunidad científica. Por otra parte, *Aurel Babés*, un patólogo rumano, publicó también la posibilidad de diagnóstico del cáncer uterino por citología exfoliativa (Bucarest, 1.927). Hacia la mitad de la década de los 40, J. *Ernest Ayre*, médico canadiense, describió el método que hoy conocemos como de **Papanicolaou**, para el estudio de la mucosa cervicovaginal. Ayre usó una espátula (espátula de Ayre) para obtener las células, extendiéndose posteriormente en un porta de cristal para luego fijarlas inmediatamente y teñirlas finalmente para hacerlas visibles al microscopio. Este hecho, junto con el desarrollo y aceptación de los conceptos de carcinoma precoz y carcinoma “in situ”, hicieron por fin que el entusiasmo por esta técnica fuese masivo y que los laboratorios de Citología y Anatomía Patológica en los años 50 realizaran esta técnica de forma rutinaria. Cuando Papanicolaou publicó su Atlas de Citología Exfoliativa en 1.954, ya se estaba utilizando esta técnica para muchos más órganos. El fundamento de la técnica está basado en dos conceptos básicos: La diferenciación escamosa de las células y la carcinogénesis, que se manifiestan por las características del citoplasma y del núcleo, respectivamente.

Se puede concluir que los trabajos de Papanicolaou y sus seguidores han dejado una influencia dominante en el desarrollo de la citología moderna actual.

Para la toma de una citología cervicovaginal existen tres instrumentos que son los más comúnmente utilizados: el cepillo endocervical, el bajalenguas y la brocha:

- **Cepillo endocervical.** Es recto y cilíndrico, debe introducirse al menos tres cuartas partes en el canal endocervical y girarse, con un pequeño giro se logra obtener material adecuado de toda la circunferencia, el rotarlo más puede provocar un sangrado y diluir la muestra. Es eficiente cuando la zona de transformación está alrededor de un orificio redondo pequeño como el de una nuplupa, o bien en donde no se ve la zona de transformación que está situada hacia el canal endocervical, como sería el caso de un cérvix con atrofia.

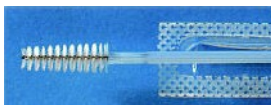


Figura 4. Cepillo Endocervical con mango estriado, 20 cm. de longitud

- **Bajalenguas.** Ernest Ayre, propuso la toma de muestras con bajalenguas directamente del cérvix, tomándolo bajo control visual mejorando dramáticamente la calidad de la muestra facilitando así su lectura e interpretación. La manipulación del instrumento es girándolo también y no se deben dar más de dos giros completos, para evitar el sangrado. Desde luego el cérvix, en la mayor parte de las pacientes, tiene cierta elasticidad y se acopla al instrumento.

Debe tenerse la precaución de que el tamaño del orificio sea adecuado y que el instrumento realmente penetre a través de él.



Figura 5. Bajalenguas

- **Brocha (Pappette).** Consta de cerdas flexibles de hule y tiene la forma de un techo de dos aguas con las cerdas más largas en el centro, que son las que entran al orificio cervical, y las más cortas en la periferia, que se quedan en el exterior. El instrumento se manipula introduciendo por el orificio las cerdas más largas y girándolo entre tres y cuatro veces, el giro se suspende si hay sangrado. Al girar van “barriendo” todo el sitio de contacto que generalmente es amplio; el material se deposita en la laminilla en forma longitudinal, se tiene en la parte central el material endocervical, en la intermedia hacia ambos extremos el material de la ZT y en la periferia el exocérnix. Este sería aparentemente el instrumento ideal; sin embargo, en orificios pequeños las cerdas no entran en el canal, en cuellos con ectropión amplio y en orificios muy alargados no se obtiene material de la ZT.

2.6 CLASIFICACIÓN CELULAR

Se ha señalado que el epitelio escamoso original de vagina y exocérnix están constituidos por un epitelio plano multiestratificado (cuatro zonas) no queratinizado que presenta una maduración ininterrumpida desde las células basales o de reserva (germinales) a las más maduras y diferenciadas de la superficie. Este proceso tiene una maduración entre 4 y 5 días.

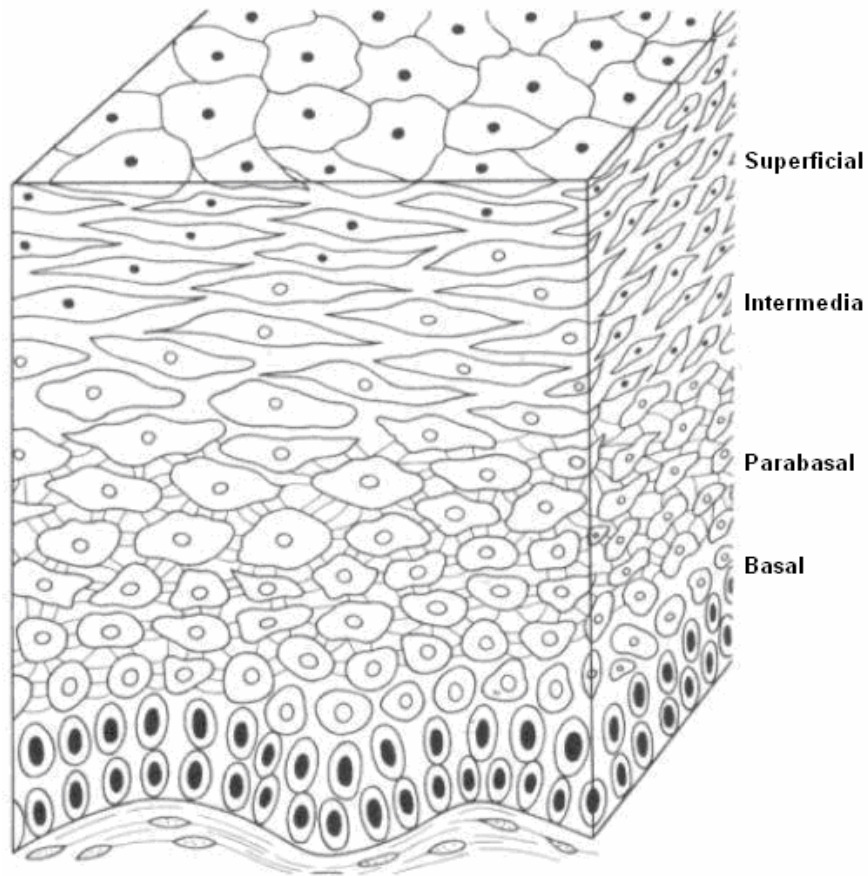


Figura 6. Maduración de células escamosas por capas

La representación citológica de las distintas capas epiteliales que constituyen el epitelio plano estratificado, está determinada según Papanicolaou así:

- **Células Basales.** Se originan en la zona más profunda del epitelio (en una sola fila de células inmaduras). Ellas pierden la forma cilíndrica que tenían *in situ* y aparecen redondeadas y ovales; con citoplasma escaso, intensamente cianófilo, denso; su núcleo es redondo, grande, central, vesiculoso casi siempre y bien conservado. Se encuentran muy rara vez en las extensiones obtenidas por

exfoliación. Solo en casos de gran carencia hormonal, con epitelios muy atróficos o en zonas de erosión e inflamación.

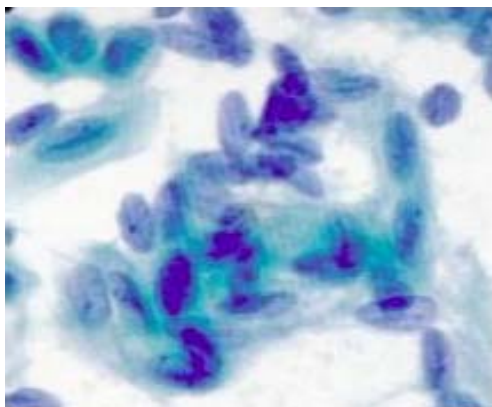


Figura 7. Células Basales.

- **Células Parabasales.** Corresponde a la zona superior a la basal, abarcando de dos a cuatro filas de células inmaduras que tienen figuras mitóticas normales, y que generan a las células que sustituyen al epitelio suprayacente conforme éste se descama. Son parecidas a las anteriores aunque de mayores dimensiones, de forma variable, con predominio de las redondeadas. Son de citoplasma cianófilo, no tan denso como las basales. Estas presentan a veces vacuolización con núcleo grande, redondeado, central y con un dibujo cromático bien visible, en el que a veces se advierten de 1 a 2 nucleolos. Estas células predominan en estados atróficos de la niñez y la posmenopausia. También en estados hipofoliculínicos intensos. A este grupo pertenecen las células posparto.



Figura 8. Células Parabasales

- **Células Intermedias.** Abarcan de 4 a 6 filas entre las zonas parabasal y superficial y están separadas por un espacio intercelular). Son pequeñas y grandes según el grado de madurez pero de mayor tamaño que las parabasales, con núcleos vesiculares. A este grupo pertenecen las células naviculares de bordes muy teñidos y con núcleo excéntrico, muy típicas del embarazo. Las más grandes ya son poliédricas, casi iguales a las superficiales, pero el núcleo todavía es vesiculoso. Con grandes cantidades de citoplasma cianófilo casi siempre, el cual comúnmente presenta dobleces. Se hallan principalmente en las siguientes circunstancias: fase premenstrual y posmenstrual y en el embarazo.

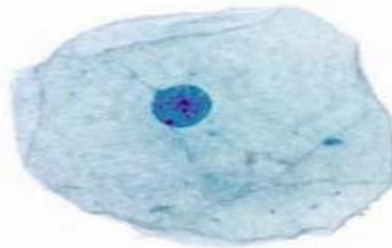


Figura 9. Células Intermedias.

- **Células Superficiales.** Proceden de la zona más alta del epitelio, abarcando de cinco a ocho filas de células aplanadas con núcleos pequeños uniformes y cuyo citoplasma está lleno de glucógeno. Son las que poseen mayor tamaño, de 8 a 6 μ de diámetro; su núcleo es picnótico característico, de un negro intenso o violeta muy oscuro lo cual es signo de gran maduración, así como la eosinofilia. Su forma es poligonal, de bordes nítidos y con un citoplasma claro que no presenta vacuolización, es eosinófilo o cianófilo a veces. Aparecen frecuentemente en la madurez sexual, desprendiéndose desde la superficie (exfoliación) y disminuyendo o desapareciendo con la pérdida de la función ovárica.

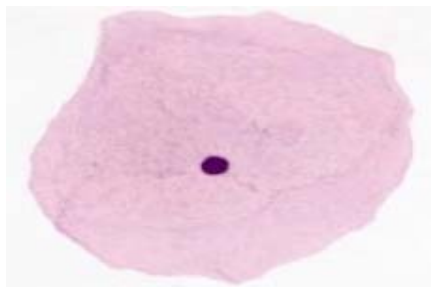


Figura 10. Células Superficiales

2.7 NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL

La enfermedad intraepitelial es frecuente, y coexiste a menudo en el cuello uterino, vagina y vulva. Las tres localizaciones comparten causas y bases epidemiológicas, y el tratamiento es, de manera característica, de resección y conservador. El diagnóstico y el tratamiento oportunos son esenciales para prevenir el progreso de la enfermedad hasta cáncer invasivo.

El concepto de enfermedad preinvasiva de cuello uterino se definió en 1947, año en que se reconoció que podían identificarse los cambios epiteliales que tenían el aspecto de cáncer invasivo pero que se confinaban al epitelio. Estudios subsecuentes demostraron que, si no se tratan estas lesiones, pueden progresar hasta convertirse en cáncer cervicouterino. Los progresos en la valoración citológica permitieron identificar las lesiones precursoras tempranas llamadas con término genérico *displasia*, que señalaba el posible desarrollo del cáncer futuro. Durante varios años el carcinoma in situ (CIS) se trató con mucha energía (más a menudo con histerectomía), en tanto que se consideraban menos importantes las displasias y no se trataban, o en todo caso se trataban mediante biopsia colposcópica y criocirugía. En 1968 se emitió el concepto de la *Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC)*. En la actualidad se reconoce que la mayor parte de las lesiones de NIC tempranas experimentarán regresión espontánea si se dejan sin tratamiento; sin embargo, el término Neoplasia Intraepitelial Cervical se refiere a una lesión que puede progresar hasta carcinoma invasivo. Este término equivale a “displasia”. Displasia significa “maduración anormal”; por tanto, la metaplasia proliferativa sin actividad mitótica no debe recibir ese término. No se debe diagnosticar a la metaplasia escamosa como displasia (o NIC), porque no progresa hasta cáncer invasivo. Por tanto, la metaplasia es tan común que se considera un proceso fisiológico normal.

Los criterios para el diagnóstico de Neoplasia Intraepitelial Cervical pueden variar según el patólogo, pero los aspectos son inmadurez celular, desorganización celular, anomalías nucleares y aumento de actividad mitótica. La extensión de la actividad mitótica, proliferación celular inmadura y atipia nuclear identifican el grado de metaplasia. Lo dicho permitirá valorar adecuadamente, en la mayoría de los casos, el estado de la mucosa cervicovaginal, tanto en el aspecto hormonal como neoplásico y microbiológico.

- **Valoración hormonal.** Durante el ciclo menstrual, la mucosa cervicovaginal, muy sensible a la secuencia hormonal fisiológica (estrógenos y progesterona), sufrirá cambios que permitirán dar una idea de la maduración celular, averiguando el “estatus” hormonal, así como detectar situaciones patológicas en las que secundariamente va a estar alterada. Una mujer en edad fértil va a tener un 40% de células intermedias y un 60% de células superficiales en la fase preovulatoria.

En la fase postovulatoria el porcentaje será inverso, con un 60% de células intermedias y 40% de células superficiales. En ambas situaciones no existen células basales ni parabasales. En la menopausia habrá un 80% de células parabasales y un 20% de células intermedias (atrofia).

- **Valoración neoplásica.** Cuando se afecta el control de división celular y se pierden gradualmente el control de las funciones básicas celulares, tales como la división y la diferenciación, se produce la transformación neoplásica. Lo que distingue la displasia del carcinoma “in situ” es la presencia o ausencia, respectivamente, de cualquier signo visible de diferenciación escamosa en las células anormales.

La intensidad de las alteraciones nucleares, la relación Núcleo/Citoplasma (N/C) y las características citoplasmáticas permitirán clasificar la lesión como displasia leve, moderada y severa (NIC I, II Y III) y carcinoma in situ.

Conforme se produce la transformación de carcinoma in situ a microinvasor y francamente invasor, el cuadro citológico va haciéndose cada vez más abigarrado, con mayores atipias y un fondo de aspecto necrótico (diátesis tumoral).

- **Valoración microbiológica y cambios celulares secundarios a inflamación.** El Prurito y la leucorrea son los motivos más frecuentes por los que una mujer acude al Ginecólogo. La inflamación no significa infección y los cambios inflamatorios persistentes implican un riesgo alto para el desarrollo de displasias.

Las infecciones específicas que se encuentran con más frecuencia e importancia clínica son: Trichomonas Vaginalis, Leptothrix, Hongos (Candidas), Actinomicosis, Virus Herpes, Chlamydia Trachomatis.

Un aspecto de vital trascendencia es que la flora normal cervicovaginal es polimicrobiana, formando un ecosistema dinámico en el que predominan los gérmenes anaerobios. Mantienen un pH ácido que protege de infecciones. El bacilo más representativo es el Doderlein. Este puede causar, en según que momentos del ciclo, una marcada lisis de las membranas celulares (citólisis), usualmente intermedias (ricas en glucógeno) produciendo núcleos sueltos como dato más característico. Esto ocurre especialmente en el embarazo y segunda mitad del ciclo. Cuando actúan microorganismos patógenos inhiben el crecimiento de los bacilos de Doderlein, produciendo alteraciones celulares distintas a la citólisis. Algunas veces se plantea un problema crucial al no poder diferenciar estos cambios de las verdaderas displasias.

2.7.1 Grados de Neoplasia Intraepitelial Cervical

La displasia y el carcinoma in situ son lesiones frecuentes. Forman parte de un espectro de lesión que abarca desde la atipia citológica ligera a la severa, y cuyo estadio final es el cáncer invasor. Antes de la introducción del término NIC (Neoplasia Intraepitelial Cervical), las alteraciones epiteliales preneoplásicas del cérvix se designaban displasias (leve, moderada o severa) y carcinoma in situ. El concepto de NIC agrupó todas estas lesiones en una única categoría diagnóstica descrita como un espectro de lesiones de creciente grado de severidad, pero con un valor pronóstico común, y permitió un tratamiento clínico más uniforme.

- **Displasia leve (NIC I).** Las alteraciones se hallan en el tercio inferior del epitelio con frecuencia son indistinguibles histológicamente de los condilomas acuminados y pueden tener un aspecto elevado (acuminado) o macular (condiloma plano). Estas lesiones exhiben típicamente un aumento del tamaño nuclear e hiper cromasia en las células epiteliales superficiales o que significa los efectos de la replicación vírica activa en las células en maduración (efecto citopático vírico). Los cambios nucleares pueden acompañarse de halos citoplásmicos (atipia coilocítica). En esta fase, las células presentan alto grado de diferenciación.

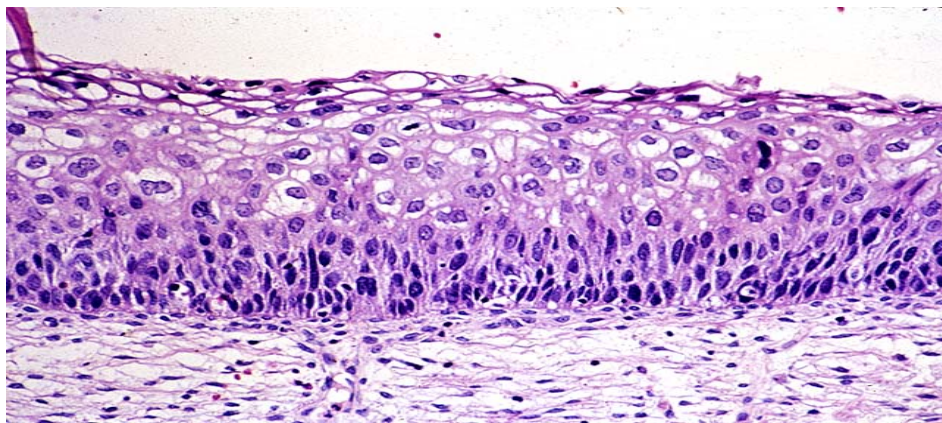


Figura 11. Displasia leve (NIC I).

- **Displasia moderada (NIC II).** Las alteraciones se encuentran en las capas epiteliales basal y media, no obstante, con diferenciación persistente (pero anormal) hacia capas de células espinosas y queratinizantes. Las células atípicas muestran cambios en la razón N/C; así como, variación en el tamaño nuclear, pérdida de la polaridad, aumento de las figuras mitóticas que incluyen mitosis anormales e hiper cromasia, en otras palabras, adoptan partes de las

características de las células malignas (moderadamente diferenciadas).

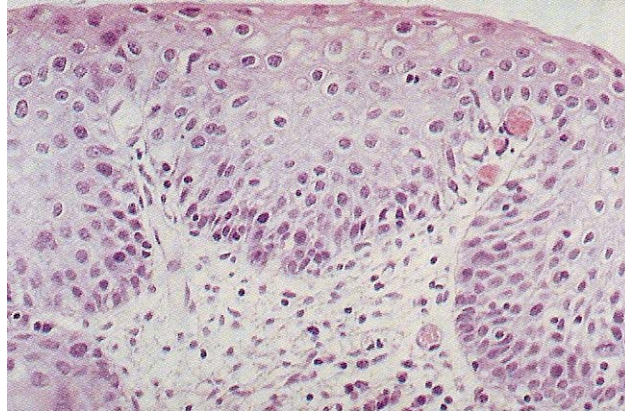


Figura 12. Displasia Moderada (NIC II)

- **Displasia severa (NIC III) y en el carcinoma in situ.** Las alteraciones nucleares y la falta de maduración afectan a todo el espesor del epitelio. A medida que la lesión evoluciona, hay pérdida progresiva de la diferenciación acompañada de una mayor atipia en más capas del epitelio, hasta que queda totalmente reemplazada por células atípicas inmaduras, y no exhibe diferenciación de superficie.

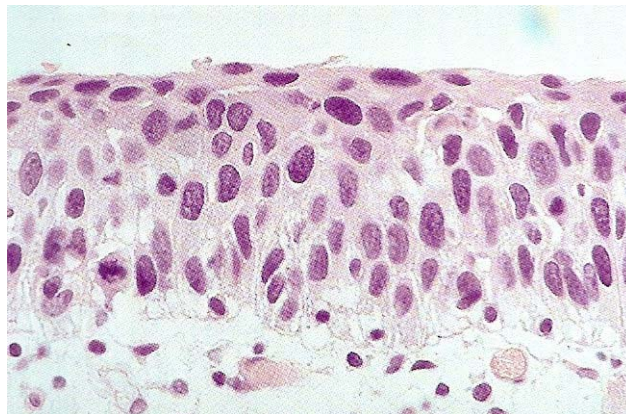


Figura 13. Displasia Severa (NIC III).

En todos los grados de displasia existe un riesgo potencial de progresión hacia el superior; sin embargo, esta capacidad es variable y depende del grado de displasia preexistente. Es decir, las displasias leves y moderadas

(NIC I y NIC II) progresan a NIC III y carcinoma In situ. Alrededor del 50% del NIC I progresa a NIC III, mientras que en el 50% restante se produce progresión a NIC II, persistencia o incluso regresión espontánea.

Uno de los principales obstáculos para predecir el potencial de progresión de una displasia es que existe cierto solapamiento entre las características citológicas de las displasias leves (**NIC I**) y las lesiones producidas por VPH (condiloma plano, condiloma acuminado). Para solucionar este problema se ha propuesto un nuevo sistema de clasificación de estas lesiones: Sistema de Bethesda.

3. CLASIFICACIÓN SEGÚN BETHESDA 2001

El problema básico de la comunicación es una elección correcta de las palabras por lo que todo lo concerniente a la nomenclatura de las lesiones cervicales no es un asunto banal. La importancia de este hecho esta perfectamente ejemplificada por la inacabable controversia respecto a los términos que deben ser utilizados para designarlas lo que ha originado, con el paso del tiempo, una amplia y a veces confusa terminología, utilizándose diferentes denominaciones para una misma lesión o, más rara vez, nombrando con el mismo término lesiones diferentes.

En diciembre de 1988, un pequeño grupo de profesionales con experiencia en patología, en histopatología y clínica participo de un encuentro auspiciado por el Instituto Nacional del Cáncer en los Estados Unidos en Bethesda, Maryland, con el objeto de elaborar un sistema que serviría para dar a conocer la interpretación citológica al ginecólogo de un modo claro y relevante. Antes de ese encuentro los laboratorios utilizaban generalmente el sistema numérico de “Clases de Papanicolau” para informar los resultados, método que era confuso y, a menudo, de índole personal o el término “displasia”, que en la práctica no se usaba para evaluar el mismo tipo de lesión entre observadores.

El resultado de este primer encuentro fue el Sistema Bethesda 1988. Esta nueva terminología reflejaba tres principios fundamentales:

1. La terminología empleada por el laboratorio debe comunicar al ginecólogo información de relevancia clínica.
2. terminología debería ser uniforme y razonablemente reproducible entre distintos citopatólogos y laboratorios y también de flexibilidad suficiente para adaptarse a laboratorios con diferentes contextos y ubicaciones geográficas.
3. La terminología debe reflejar los conocimientos más actuales de las neoplasias cervicales.

Al principio, la nueva nomenclatura fue recibida con escepticismo, no sólo porque proponía remplazar las clasificaciones que habían estado en uso durante varias décadas, sino porque eliminaba la categoría diagnóstica de displasia moderada o NIC II. Tradicionalmente se consideró que los cambios celulares provocados por el virus del papiloma humano (VPH) no estaban vinculados a los “verdaderos” precursores del cáncer cervical, que estaban subdivididos en cuatro categorías (displasia leve, moderada, severa y carcinoma in situ) o en tres categorías (NIC I, II y III), clasificación que reflejaba una secuencia biológica. El Sistema Bethesda propuso una división binaria en lesiones escamosas intraepiteliales de alto y bajo grado

(HSIL y LSIL). En la figura 14 están representadas las regiones en distintos tonos de colores para enfatizar la secuencia morfológica de los hallazgos citológicos y las transiciones imprecisas que separan a las distintas categorías; **Azul** = negativo; **Verde** = ambiguo; **Amarillo** = anomalías epiteliales de bajo grado (generalmente, infección por VPH); **Naranja** = anomalías intraepiteliales de alto grado (generalmente, neoplasias intraepiteliales vinculadas al VPH); **Rojo** = carcinoma. La clasificación de papanicolaou se basa en el riesgo que tiene una paciente de padecer cáncer y está representada en el esquema como una cuña de riesgo de menor a mayor desde la clase I a la V.

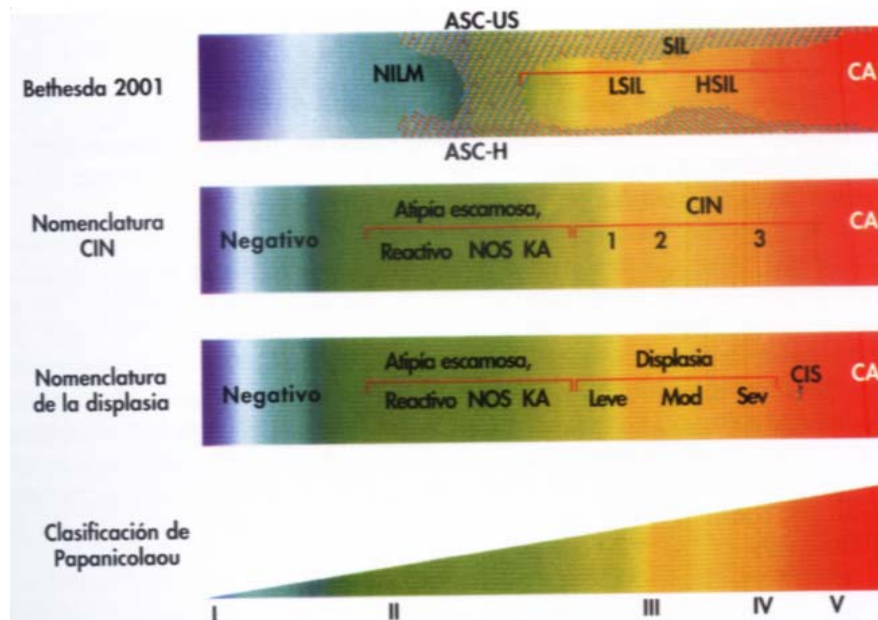


Figura 14. Comparación entre las cuatro clasificaciones entre las células escamosas

3.1 NEGATIVO PARA LESIÓN INTRAEPITELIAL O MALIGNIDAD (NLIM).

Pertenecen a los extendidos en los que no se identifica ninguna anomalía epitelial, independientemente de la presencia de microorganismos u otros hallazgos no neoplásicos

3.1.1 Microorganismos

- Trichomonas Vaginalis.
- Elementos micóticos de características morfológicas compatibles con Candida.

- Cambios de la flora vaginal sugerentes de vaginosis bacteriana.
- Bacterias de características morfológicas compatibles con Actinomyces.
- Cambios celulares compatibles con Herpes simple.

3.1.1.1 Otros Hallazgos No Neoplásicos

- Cambios celulares reactivos de naturaleza benigna asociados a:
 - Inflamación (Incluso reparación típica)
 - Radiación
 - Dispositivo Intrauterino (DIU)
- Células glandurales poshisterectomía
- Atrofia

3.2 OTROS HALLAZGOS

- Células endometriales en una mujer mayor de cuarenta años.

3.2.1 Anomalías de Células Epiteliales

3.2.1.1 Células Escamosas

3.2.1.2 Células Escamosas Atípicas (ASC).

El término ASC representa cambios citológicos sugestivos de Lesión Escamosa Intraepitelial (SIL) que son cualitativamente o cuantitativamente insuficiente para elaborar una interpretación definitiva. Es preciso analizar minuciosamente los hallazgos citológicos sugestivos de cambios reactivos benignos y clasificarlos con criterio como “negativos para lesión intraepitelial o malignidad” siempre que sea posible. Para elaborar la interpretación de ASC, es preciso que las células examinadas muestren tres características esenciales:

- Diferenciación escamosa
- Aumento de la relación núcleo citoplasma
- Hiperchromasia nuclear mínima, cromatina irregular glandular/condensada o multinucleación.

La categoría ASC fue creada para calificar una muestra en su totalidad y no células por separado.

- **De Significado Indeterminado (ASC-US).** Se refiere a cambios que pueden sugerir Lesión Escamosa Intraepitelial de Bajo Grado (LSIL) o SIL de grado indeterminado. Si bien la mayoría de las interpretaciones ASC-US sugieren LSIL, se prefiere el término "de significado indeterminado" debido a que se ha demostrado que en alrededor del 10% al 20% de las mujeres que presentan ASC-US se detectan NIC II o NIC III durante el seguimiento.

Las células intermedias de aspecto normal que se observan en un extendido constituyen una fuente adecuada de comparación para determinar si el tamaño y el aspecto del núcleo cumplen con los criterios de ASC-US. Las células ASC-US típicas tienen el tamaño y la forma de células escamosas intermedias o superficiales. También entran dentro de la categoría ASC-US las células redondeadas u ovoides que tienen alrededor de un tercio del tamaño de las células superficiales y, por ende, se asemejan a células intermedias pequeñas o metaplásicas grandes.

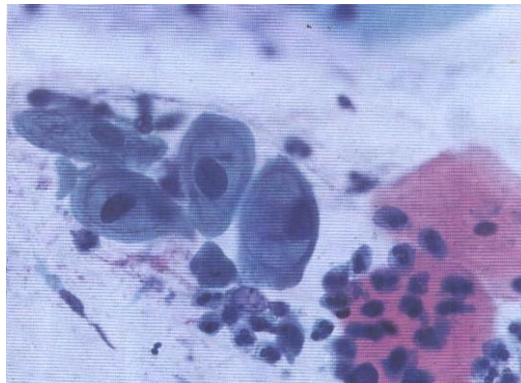


Figura 15. ASC-US de mujer premenopáusica que sugiere LSIL (por VPH).

- **No es posible descartar Lesión Escamosa Intraepitelial de Alto Grado (HSIL) (ASC-H).** Las Células ASC-H suelen ser escasas y pueden presentar la siguiente morfología:
 - Células pequeñas con relación Núcleo/Citoplasma (N/C) alta: "Metaplasia Atípica (inmadura)"
 - Disposición en lámina densa

ASC-H es un término reservado para una minoría de casos ASC (menos del 10%) en los cuales los cambios citológicos sugieren HSIL o un carcinoma. Los casos clasificados como ASC-H están asociados a un valor de predicción positiva mayor para detectar NIC II y NIC III

en el seguimiento que los ASC-US, pero son menos predictivos NIC II o una lesión de mayor grado que las interpretaciones definitivas de HSIL.

Los resultados del estudio ASCUS/LSIL Triage Study (ALTS) hallaron que las interpretaciones ASC-H estaban asociadas a un mayor riesgo de detectar ADN de VPH oncogénico y un mayor riesgo de NIC II o una lesión de mayor grado oculta (30% - 40%) que ASC-US (10% - 15% de riesgo de hallar NIC II o una lesión de mayor grado).

Cuando las células que tienen aspecto metaplásico muestran agrandamiento nuclear relativamente leve, irregularidad, distribución cromatínica granular o hipercromasia, surge la sospecha de SIL debido a que la relación N/C puede ser similar a la de HSIL. El margen del tamaño y del aspecto nuclear que pueden tener las células escamosas metaplásicas normales en un extendido constituye un parámetro para determinar si las células en estudio justifican la interpretación ASC-H.

Las células endometriales degeneradas y los macrófagos también pueden tener un núcleo que se asemeje a los HSIL, lo que puede generar interpretaciones falsas positivas. Asimismo, algunas mujeres que tienen DIU pueden presentar pequeñas células benignas anómalas con una relación N/C alta, que parecen HSIL. La interpretación ASC-H o Células Glandulares Atípicas (AGC) puede ser apropiada si la causa de los cambios no es certera.

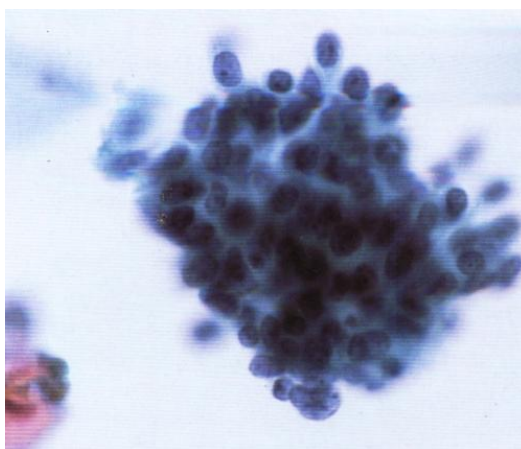


Figura 16. ASC-H Mujer de 48 años con células hipercromáticas. En el seguimiento su diagnóstico fue NIC II

3.2.1.3 Lesión Escamosa Intraepitelial (SIL)

Es el espectro de anomalías escamosas no invasoras del epitelio cervical asociadas al virus del papiloma humano (VPH), que incluye desde cambios celulares asociados a la infección transitoria por VPH hasta cambios celulares anómalos que representan precursores de alto grado hacia el carcinoma invasor de células escamosas.

La preocupación expresada acerca de esta clasificación consiste en que la línea divisoria que separa a los precursores de alto y bajo grado debería establecerse entre NIC II y NIC III porque la evolución natural de lesiones NIC II, sin tratamiento, es más parecida a la de NIC I que a la de NIC III. No obstante, dada la variabilidad de interpretación y comportamiento biológico de las lesiones "NIC II citológicas", se considera apropiado establecer el criterio citológico que diferencie a las lesiones de alto y bajo grado entre NIC I y NIC II. Esta línea divisoria también ha demostrado tener mejor reproducibilidad entre los observadores que emplean un resultado dicotómico, positivo o negativo, según lo consigna el estudio ALTS (M. Schiffman, comunicación personal).

Aún cuando sólo se empleen dos categorías de SIL, se registra una discrepancia general entre patólogos de 10% a 15% entre las interpretaciones LSIL y HSIL en los extendidos citológicos de cuello uterino. El estudio citológico también puede discrepar con el histológico: entre el 15% y 25% de las mujeres que tienen LSIL presentan NIC II o NIC III en la histología cuando se continúa investigando

3.2.1.3.1 Lesión Escamosa Intraepitelial de Bajo Grado (LSIL).

En esta categoría se incluye: el VPH y Displasia Leve o NIC I. Son varios los estudios que han demostrado que los criterios morfológicos empleados para distinguir la "coilocitosis" de la displasia leve o NIC I varían entre investigadores y carecen de significado clínico. Además, puesto que estas lesiones comparten tipos similares de VPH, y su comportamiento biológico y tratamiento clínico son similares, está justificado emplear un solo término, LSIL, para describirlas.

Criterios

- Las células se observan aisladas o en láminas.
- Los cambios citológicos suelen estar limitados a las células que tienen citoplasma "maduro" o superficial.
- Las células tienen un tamaño general grande y citoplasma "maduro", bastante redundante y bien definido.

- El agrandamiento nuclear que supera el triple del tamaño del área del núcleo de una célula intermedia normal genera un leve aumento de la relación N/C.
- Se observan grados variables de hiperchromasia nuclear acompañados de variabilidad de tamaño, número y morfología nucleares.
- Es frecuente observar binucleación y multinucleación.
- La cromatina suele ser de distribución uniforme y granular; otra posibilidad es que la cromatina se observe condensada o densamente opaca.
- Los nucleolos suelen estar ausentes o ser poco visibles si están presentes.
- El contorno de la membrana nuclear a menudo es algo irregular, pero puede ser liso.
- Las células tienen bordes citoplasmáticos bien definidos.
- Los halos perinucleares (coilocitosis), que se componen de una zona clara, bien delimitada y un borde periférico de citoplasma densamente teñido, es una característica propia pero no indispensable en lesiones de bajo grado; otra posibilidad es que el citoplasma sea denso y eosinófilo (queratinizado).

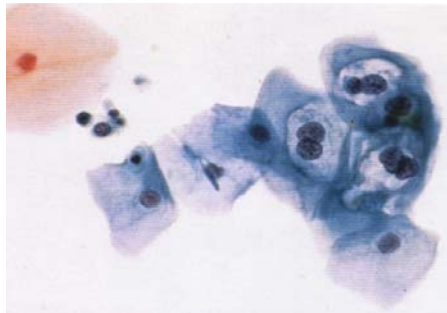


Figura 17. Mujer de 32 años. Células con halos perinucleares.



Figura 18. Mujer de 22 años diagnosticada con NIC I.

3.2.1.3.2 Lesión Escamosa Intraepitelial de Alto Grado (HSIL)

En esta categoría se incluyen: Displasia Moderada o NIC II, Displasia Severa o NIC III y Carcinoma In Situ (CIS).

- Con hallazgos sospechosos de invasión

Criterios

- Los cambios citológicos afectan a células más pequeñas y menos "maduras" que las lesiones de bajo grado (LSIL).
- Las células pueden estar aisladas, en láminas o en agregados pseudosincitiales.
- Los grupos hipercromáticos deben ser evaluados minuciosamente.
- El tamaño general de las células es variable: pueden tener desde un tamaño similar al de las observadas en lesiones de bajo grado hasta el tamaño bastante pequeño de las células de tipo basal.
- La hipercromasia nuclear se acompaña de variaciones de tamaño y morfología nuclear.
- El grado de hipertrofia nuclear es más variable que el que se presenta en lesiones de bajo grado.
- Algunas células de HSIL pueden tener el mismo grado de agrandamiento nuclear que las de lesiones de bajo grado, pero el área citoplasmática es más pequeña, por lo que aumenta considerablemente la relación N/C. Otras células tienen una relación N/C muy alta, pero el tamaño real del núcleo puede ser mucho más pequeño que el de las células en lesiones de bajo grado.
- La cromatina puede ser laxa o granular en grumos gruesos y de distribución uniforme.
- El contorno de la membrana nuclear puede ser bastante irregular y suele mostrar indentaciones prominentes o escotaduras.

Por lo general, los nucleolos están ausentes, pero cuando están presentes, a menudo la extensión de lesiones de alto grado (HSIL) es hacia los espacios de las glándulas endocervicales. El aspecto del citoplasma es variable y puede parecer "inmaduro", con aspecto de encaje, claro y transparente o ser densamente metaplásico, pero, en ocasiones, es "maduro" y muy queratinizado (HSIL queratinizante).

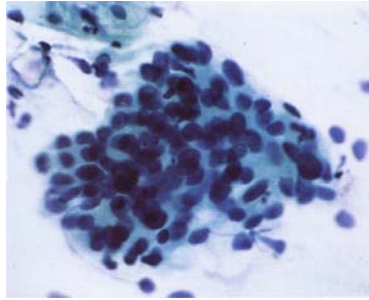


Figura 19. HSIL. Las células displásicas que se observan en un grupo sincitial o en un grupo hipercromático denso.

- **Lesiones queratinizantes.** Si bien la mayoría de las lesiones de alto grado (HSIL) se caracterizan por contener células con relación N/C alta, algunas lesiones de alto grado se componen de células que tienen citoplasma más abundante pero con queratinización anómala. Estas células pueden estar dispuestas aisladas o en grupos tridimensionales y tener el núcleo hipercromático y agrandado, frecuentemente con cromatina densa que oculta las demás características nucleares. Generalmente son bastante pleomorfas con gran variación de tamaño nuclear (anisocariosis) y forma celular, por ejemplo, células elongadas, fusiformes, caudadas y con forma de renacuajo. A diferencia del carcinoma invasor de células escamosas, a menudo no se hallan nucleolos ni diátesis tumoral; pero, pueden hallarse características que sugieran diátesis tumoral (hematíes, necrosis o restos proteináceos granulares en el fondo), pero no identificarse células malignas. Este tipo de lesiones ha recibido distintas denominaciones: "condiloma atípico", "displasia queratinizante" y "displasia pleomorfa". A veces, estas lesiones queratinizantes pueden resultar indistinguibles del carcinoma invasor, sobre todo en muestras que tienen un número relativamente escaso de células anómalas. En este caso, puede emplearse la interpretación: HSIL de características sospechosas de invasión.

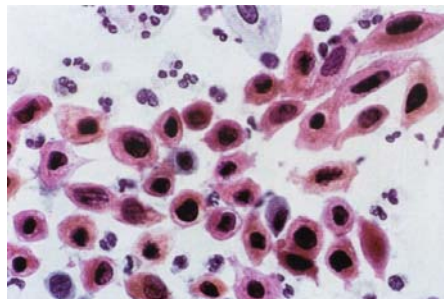


Figura 20. Células con Lesión Queratinizante

3.2.1.3.2.1 Tipos de HSIL que pueden pasar inadvertidos

- **HSIL de pequeñas células.** Las muestras que contienen células de HSIL de aspecto infrecuente, pequeñas y de relación N/C alta pueden ser problemáticas respecto de la identificación de las células y la clasificación de la anomalía. Así, las probabilidades de que el resultado sea un falso negativo es alta en los extendidos convencionales que contienen relativamente pocas células neoplásicas aisladas o sólo escasos grupos voluminosos de células neoplásicas. Por tanto, si se identifican células anómalas de aspecto infrecuente pero los hallazgos no bastan para elaborar la interpretación HSIL, se puede clasificar la muestra como ASC-H. El diagnóstico diferencial de las células aisladas que tienen relación N/C alta se debate entre la metaplasia escamosa inmadura, los cambios celulares asociados a DIU y las células aisladas de origen endometrial o endocervical.

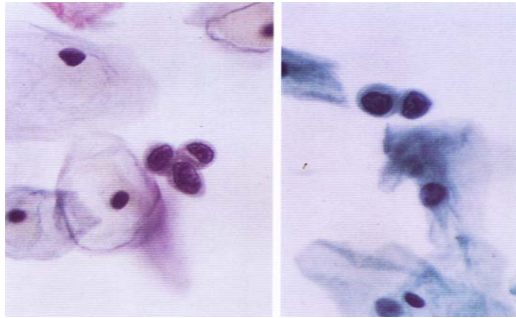


Figura 21. HSIL de pequeñas células.

- **HSIL con células dispuestas "en hilera", generalmente dentro del moco.** Las células de HSIL ubicadas dentro de los filamentos de moco pueden simular células del estroma endometrial superficial o histiocitos, o células endocervicales degeneradas como las que se hallan en la hiperplasia microglandular.

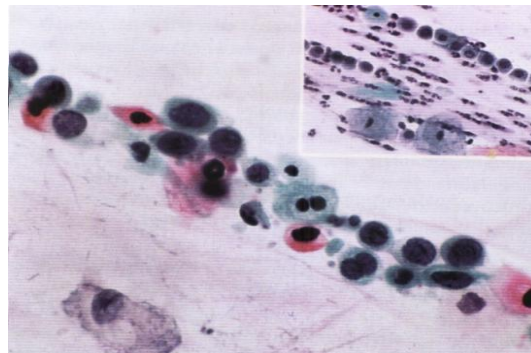


Figura 22. HSIL.

En la figura 22 se observa con bajo aumento (imagen destacada en el sector superior derecho), el aspecto en “hilera” que presentan las células de HSIL dentro del moco simula histiocitos y células endocervicales/metaplásicas. Con gran aumento no hay dificultad de para reconocer la lesión de alto grado.

3.2.1.3.3 Carcinoma Escamoso

Tumor maligno invasor que presenta diferenciación escamosa de las células. El Sistema Bethesda no subdivide el carcinoma de células escamosas.

3.2.1.3.3.1 Carcinomas Infiltrantes de Células Escamosas

Los Carcinomas Invasores están compuestos de células escamosas de varios grados de diferenciación. Macroscópicamente los carcinomas infiltrantes de células escamosas pueden ser:

Tabla 1. Tipos de Carcinomas Infiltrantes

Nombre	Características	%
Excrecente	Exofílico, en cuyo caso crece fuera de la superficie, a menudo como una papila o pólipo excrecente.	60%
Ulcerado	De bordes levantados, irregulares, y con fondo necrótico y sucio, se halla en la zona de transformación.	25-30%
Endofítico o Infiltrante Difuso	La lesión infiltra el estroma cervical, generalmente hacia el canal. El exocérnix anatómico puede verse normal, pero el cuello está abombado y aumentado de consistencia. La lesión puede comprometer toda la circunferencia cervical, el labio anterior y el posterior.	10-15%

Ellas varían en su modelo de crecimiento, tipos de células y grados de diferenciación. La mayor parte de carcinomas se infiltran como redes de cintas o bandas anastomosadas infiltrando el estroma y aparecen como islas irregulares, a veces rodeadas pero generalmente angulares y claveteadas. A menudo, en áreas adyacentes al carcinoma invasor se pueden visualizar zonas de carcinoma In situ y de otros grados variables de NIC. Asimismo, no puede ser excluida la invasión cuando el epitelio escamoso muestra rasgos de NIC II o NIC III pero no está presente el estroma subyacente.

Una variedad de tipos histológicos de carcinoma de células escamosas ha sido descrita. Las principales variedades son:

- **Carcinoma Escamoso queratinizante.** Estos tumores están constituidos por células grandes, contienen perlas de queratina compuestas de volutas circulares de células escamosas con grumos centrales de queratina, con puentes intercelulares, usualmente son observados gránulos queratinizados y queratinización citoplasmática.

Criterios

- Es probable hallar un número relativamente bajo de células, a menudo aisladas y, con menos frecuencia, en conglomerados.
- Es característica la variación considerable de tamaño y morfología celulares, y suelen hallarse células caudadas y fusiformes que frecuentemente contienen citoplasma eosinófilo denso. Se observa fondo de "diátesis tumoral".
- Los núcleos también pueden tener una variabilidad importante de tamaño, las membranas nucleares pueden tener configuración irregular y es usual hallar numerosos núcleos hipercromáticos. La configuración de la cromatina, cuando es reconocible, está dispuesta en grumos gruesos y con una distribución granular acompañada de áreas claras de paracromatina.
- Las figuras mitóticas no son tan abundantes y son vistas células moderadamente diferenciadas en el perímetro de las masas invasivas.
- Es probable hallar macronucleolos, pero son menos habituales que en los carcinomas no queratinizantes de células escamosas.
- Pueden hallarse cambios queratósicos asociados ("hiperqueratosis" o "paraqueratosis pleomorfa"), pero su presencia no basta para elaborar la interpretación de carcinoma si no se hallan anomalías nucleares.
- Puede observarse diátesis tumoral, aunque suele ser de menor grado que la asociada a los carcinomas de células escamosa no queratinizantes.

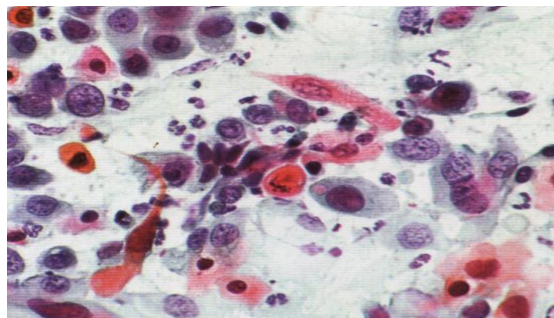


Figura 23. Carcinoma escamoso queratinizante.

En la figura 23 se observa un marcado pleomorfismo de forma y tamaño celular, queratinización citoplasmática y diátesis tumoral en el fondo.

- **Carcinoma Escamoso no queratinizante.** Estos tumores están compuestos generalmente de células poligonales reconocibles que pueden tener queratinización individual de células y puentes intercelulares pero no perlas queratinizantes.

Criterios

- Los extendidos citológicos y los elementos celulares tumorales se pueden encontrar solitarios o dispuestos en sincitios que muestran grados variables de anisocariosis.
- El pleomorfismo nuclear y celular es más obvio en los tumores bien diferenciados y en las figuras mitóticas, que son por lo general numerosas
- Es frecuente que las células sean algo más pequeñas que las de las lesiones de alto grado, aunque presenten la mayoría de las características de HSIL.
- Los núcleos son relativamente grandes y presentan distribución muy irregular de la cromatina aglutinada en grumos. Pueden tener nucleolos irregulares.
- Es frecuente hallar diátesis tumoral compuesta de restos necróticos y sangre hemolisada. Además, los tumores de células grandes pueden presentar: macronucleolos prominentes y citoplasma basófilo

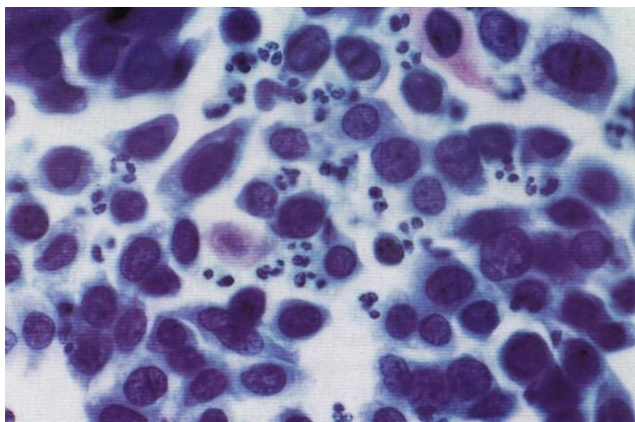


Figura 24. Carcinoma escamoso no queratinizante.

En la figura 24 las células neoplásicas muestran características nucleares de HSIL. Las células pleomorfas deberían suscitar la sospecha de invasión pese a que no se hallan nucléolos prominentes ni diátesis tumoral en este campo. En el seguimiento, el diagnóstico fue carcinoma de células escamosas.

3.3 NOMENCLATURA DE PRECURSORES Y TUMORES ESCAMOSOS

Los tumores epiteliales escamosos primarios del cérvix uterino, pueden ser benignos o malignos

ICD-O Codes

Carcinoma de Célula Escamosa	8070/3
Queratinizante	8071/3
No Queratinizante	8072/3
Basaloide	8083/3
Verrucoso	8051/3
Tipo Warty	8051/3
Papilar	8052/3
Lymphoepithelioma-Like	8082/3
Célula Transicional	8120/3
Carcinoma Microinvasivo de Célula Escamosa	8076/3
Neoplasia Intraepitelial Cervical III	8077/2
Carcinoma In-Situ de Célula Escamosa	8070/2
Papiloma Escamoso	8052/0

4. TRATAMIENTO DIGITAL DE IMÁGENES

4.1 FUNDAMENTOS

El interés del tratamiento digital de imágenes se deriva de 2 áreas principales de aplicación, la mejora de la información de imágenes para la interpretación humana y el procesamiento de una escena para la percepción automatizada.

En la primer área, se tendrá en cuenta lo importantes que son los procedimientos de mejora de las imágenes y de restauración que se emplean para procesar imágenes degradadas de objetos irre recuperables o bien resultados experimentales demasiado costos para ser duplicados.

La segunda área, permite solucionar problemas relacionados con la percepción automatizada, es decir, procedimientos para extraer información de la imagen de forma conveniente para el procesamiento por computadora. En medicina, por ejemplo, los procedimientos informatizados realzan el contraste o codifican los niveles de intensidad en colores para facilitar la interpretación de las imágenes de rayos X y de otras imágenes biomédicas como las de citología cervicouterinas, que son el interés del proyecto desarrollado.

El objetivo global de las técnicas de procesamiento digital de imágenes es resolver problemas que requieren normalmente métodos capaces de realzar la información de las imágenes para la interpretación y el análisis humano. El tratamiento de imágenes se caracteriza por soluciones específicas. Así, técnicas que funcionan bien en un área pueden ser totalmente inadecuadas en otra.

4.2 ETAPAS FUNDAMENTALES DEL PROCESAMIENTO DE IMÁGENES

Los elementos de un sistema que sea capaz de realizar las operaciones de tratamiento digital de imágenes; generalmente lleva a cabo:

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

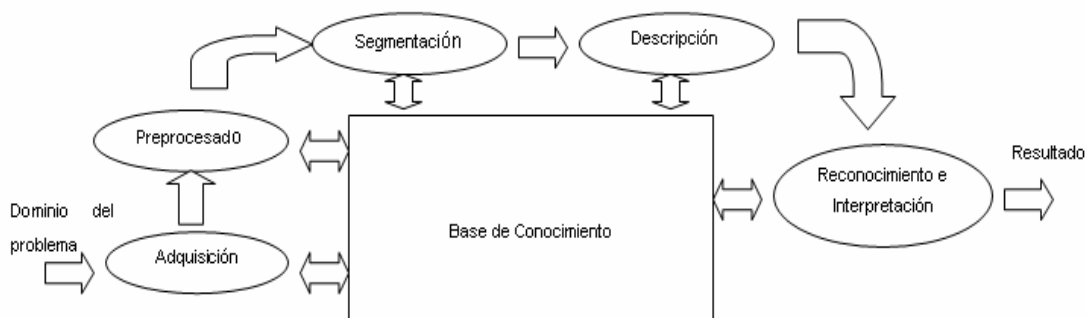


Figura 25. Etapas fundamentales del procesamiento digital de imágenes.

4.2.1 Adquisición de la Imagen

Es considerada como la etapa más importante, ya que obtener una buena toma de la imagen, con las mejores condiciones de iluminación, aumento y resolución, es fundamental para obtener resultados favorables en las etapas siguientes del procesamiento y por ende un resultado conveniente.

4.2.2 Preprocesamiento

Existen técnicas de preprocesamiento: Punto a Punto, Espacial, Frecuencial y procedimientos en imágenes a color.

4.2.2.1 Mejora por procesamiento de punto

Son métodos de procesamiento que se basan solo en la intensidad de píxeles individuales independientemente de la naturaleza de sus vecinos. Es decir, Cuando la mejora de cada punto de una imagen depende solo del nivel técnicas más simples de mejora de la imagen. de gris en ese punto. Los procesos punto a punto se encuentran entre las

4.2.2.1.1 Negativos de imágenes

La idea es invertir el orden de blanco a negro y viceversa, de forma que la intensidad de la imagen de salida disminuya conforme la intensidad de la imagen de entrada aumente.

4.2.2.1.2 Aumento del contraste

Consiste en incrementar el rango dinámico de los niveles de gris de la imagen que se esta procesando.

4.2.2.1.3 Histograma de una Imagen

Esta representación gráfica proporciona una descripción global de la apariencia de una imagen, lo cual suministra información útil sobre la posibilidad de mejora de la imagen. En la Figura 26 la x y $h(x)$ significan:

$x \rightarrow$ Nivel de gris $[0, 255]$, y el valor de

$h(x) \rightarrow$ Cantidad de puntos o píxeles en cada nivel de gris.

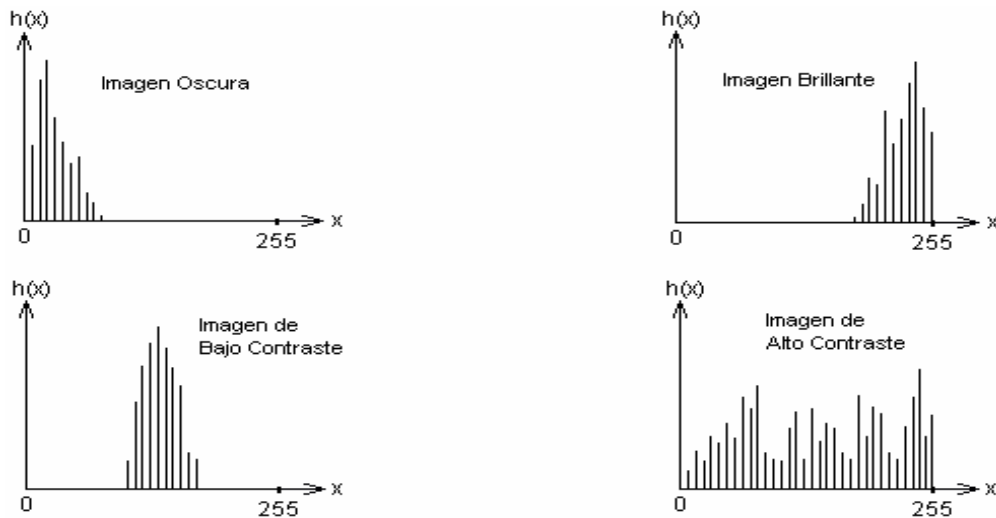


Figura 26. Histogramas correspondientes a cuatro tipos básicos de imágenes.

4.2.2.1.4 Ecualización de un Histograma

En términos de mejora, ello implica un incremento del rango dinámico de los píxeles, que puede tener un efecto considerable en la apariencia de la imagen. Desde luego, la ventaja de la ecualización del histograma sobre las técnicas de manipulación manual del contraste es que la primera resulta completamente automática. Sin embargo, aunque el método de la ecualización del histograma es muy útil, no conduce por sí mismo a las aplicaciones interactivas de mejora de la imagen. La razón de ello es que este método sólo es capaz de generar un único resultado.

4.2.2.2 Métodos en el dominio espacial

El término dominio espacial se refiere al conjunto de píxeles que componen una imagen, y los métodos en el dominio espacial son procedimientos que operan directamente sobre los píxeles.

Las funciones de procesamiento de la imagen en el dominio espacial pueden expresarse como:

$$g(x,y) = T[f(x,y)]$$

Donde $f(x,y) \rightarrow$ Es la imagen de entrada

$g(x,y) \rightarrow$ Es la imagen procesada

$T \rightarrow$ Es un operador que actúa sobre f , definido en algún entorno (x,y) . Además, T puede operar sobre un conjunto de imágenes de entrada.

La idea general consiste en determinar g en un punto (x,y) a partir de los valores de f en un entorno predefinido de (x,y) . Una de las aproximaciones principales en este tipo de formulación se basa en el empleo de las denominadas máscaras (ventanas, plantillas o filtros).

4.2.2.2.1 Filtros suavizantes

Los filtros suavizantes como su nombre lo indican suavizan la imagen; se emplean para reducir el ruido, pero la imagen se puede ver algo borrosa (se difuminan los bordes y otros detalles de realce). Esto último puede ser útil en algunas etapas de preprocesado como la eliminación de los pequeños detalles antes de la extracción de un objeto y el relleno de pequeños espacios entre líneas o curvas.

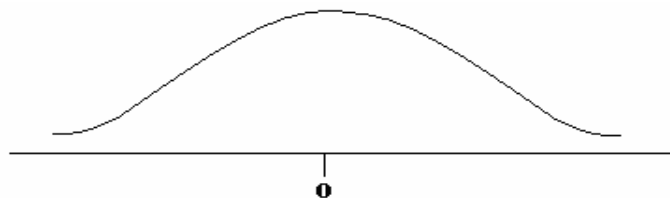


Figura 27. Forma de la función de un filtro suavizante.

4.2.2.2.1 Filtro Espacial Pasa – Bajo

Es un filtro suavizante y su principal característica es que la suma de los elementos que conforman la matriz es igual a 1 (uno). La forma de respuesta de un filtro espacial de paso-bajo indica que este ha de tener todos los coeficientes positivos.

4.2.2.2.2 Filtros realzantes

El objetivo principal del realce es el destacar los detalles finos de una imagen o intensificar detalles que han sido difuminados bien sea por error o bien por defecto natural del método de adquisición de la imagen. Las utilidades del realce de las imágenes son variadas e incluyen aplicaciones que van desde la impresión electrónica y las imágenes médicas hasta las inspecciones industriales e incluso la detección autónoma de objetivos en las ramas inteligentes.

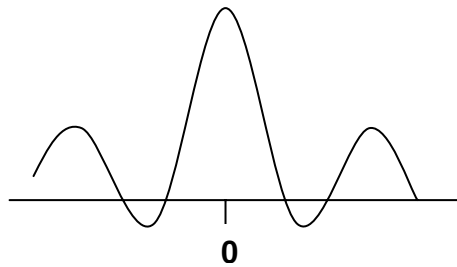


Figura 28. Forma de la función de un filtro realzante.

4.2.2.2.1 Filtro Espacial Pasa - Alto

La forma de respuesta de un filtro espacial de paso-bajo indica que el filtro ha de tener todos los coeficientes positivos.

El perfil de respuesta necesaria para implementar un filtro espacial de paso-alto (realce) indica que el filtro debe tener coeficientes positivos cerca de su centro y coeficientes negativos en la periferia. La sumatoria de los coeficientes debe ser igual a 0. Así cuando la mascara esta sobre un área de nivel de gris constante o lentamente variable, la salida proporcional por la mascara es cero o un numero muy pequeño. Como consecuencia el resultado viene caracterizado por una mejora de los bordes sobre un fondo relativamente oscuro.

4.2.2.3 Método del dominio frecuencial

- **Transformada de Fourier Discreta:**

$$F(u,v) = 1 / MN \sum_{x=0}^{M-1} \sum_{y=0}^{N-1} f(x,y) e^{-i2\pi (ux/M + vy/N)}$$

- **Transformada Inversa de Fourier:**

$$f(x,y) = \sum_{u=0}^{M-1} \sum_{v=0}^{N-1} F(u,v) e^{-i2\pi (ux/M + vy/N)}$$

La Transformada de Fourier me indica frecuencias. En Fourier las frecuencias se refieren a que tan homogénea o cambiante es la imagen. Dicho de otra forma, frecuencia se refiere a que tan frecuentes son los cambios; teniendo en cuenta esto, se tiene que los bordes y otras transiciones bruscas (como el ruido) en los niveles de gris de una imagen contribuyen significativamente al contenido en *altas frecuencias*; por el contrario, regiones muy homogéneas (sin cambios bruscos) en los niveles de gris de una imagen, contribuyen al contenido en *bajas frecuencias*. Lo anterior, es posible observarlo en el espectro de Fourier que resulta de la transformada de una imagen digital.

En el espectro, las frecuencias aumentan radialmente a partir del origen. Es decir, los puntos más cercanos al origen del espectro representan las bajas frecuencias de la imagen y los puntos más lejanos representan las altas frecuencias.

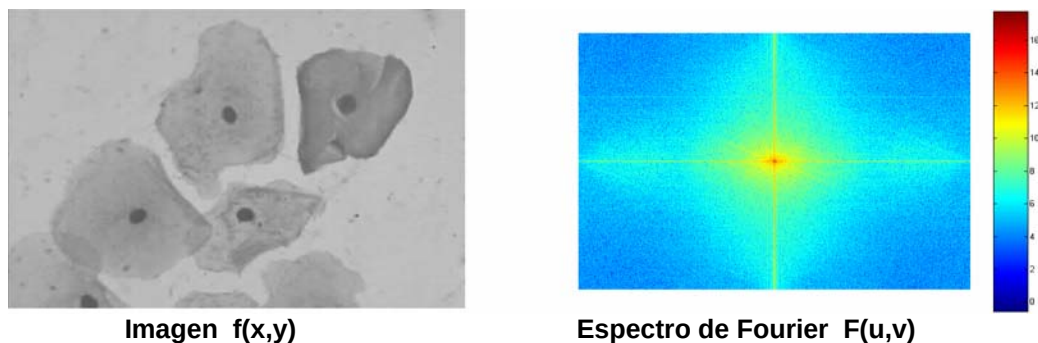


Figura 29. Ejemplo de una imagen de Células Intermedias el respectivo Espectro de Fourier.

Los principios de mejora en el dominio de la frecuencia son claros. Simplemente se trata de calcular la transformada de Fourier ($F(u,v)$) de la imagen a procesar ($f(x,y)$), multiplicar el resultado por la función de transferencia de un filtro ($H(u,v)$), y finalmente, tomar la transformada de Fourier inversa ($G^{-1}(g(u,v))$) para llegar a una imagen mejorada ($g(x,y)$). En la figura 30 se resume lo anterior:

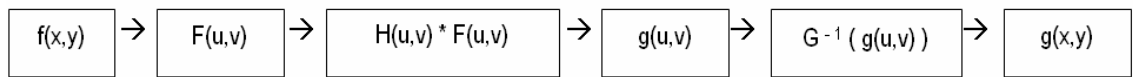


Figura 30. Funcionamiento del Filtrado Frecuencial

La idea de pérdida de nitidez por reducción del contenido de altas frecuencias o de mejor definición incrementando la magnitud de las componentes de alta frecuencia en relación con las de baja frecuencia procede de conceptos directamente relacionados con la transformada de Fourier. En la práctica, las máscaras espaciales son mucho más empleadas que las transformadas de Fourier debido a su facilidad de implementación y a su velocidad de operación. Sin embargo, es esencial la comprensión de los conceptos en el dominio de frecuencias para solucionar los muchos problemas que no se pueden resolver con técnicas espaciales.

4.2.2.3.1 Filtro Frecuencial pasa - bajo

El difuminado o suavizado se consigue, en el dominio de la frecuencia a base de atenuar un rango específico de componentes de alta frecuencia en la transferencia de la imagen dada.

$$H(u,v) = \begin{cases} 1 & \text{si } D(u,v) \leq D_0 \\ 0 & \text{si } D(u,v) > D_0 \end{cases}$$

Donde $D_0 \rightarrow$ Radio del filtro

$D(u,v) \rightarrow$ Distancia desde el punto (u,v) hasta el origen.

La relación anterior indica que todas las frecuencias dentro de un círculo de radio D_0 pasan sin atenuación, mientras que todas las frecuencias fuera de este círculo quedan atenuadas completamente. Conforme crece el radio del filtro, se eliminan cada vez menos componentes de alta frecuencia, resultando un difuminado menos estricto. En la figura 31 se muestra una perspectiva tridimensional de la función de transferencia $H(u,v)$ de un filtro Pasa-Bajo ideal y otra donde se observa la sección transversal de este filtro.

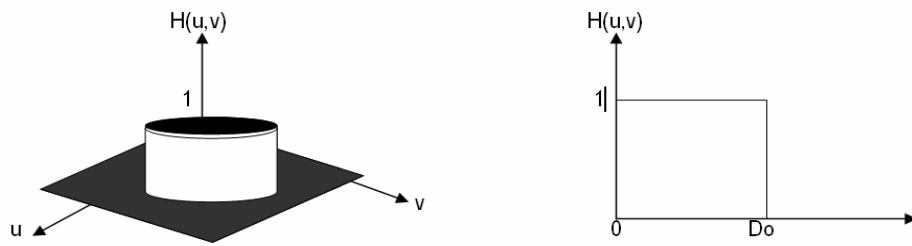


Figura 31. Dibujo en perspectiva de un filtro pasa bajo y su sección transversal radial.

4.2.2.3.2 Filtro Frecuencial Pasa-Alto

Debido a que los bordes y demás cambios bruscos de los niveles de gris están relacionados con las componentes de alta frecuencia, puede lograrse el realce de la imagen en el dominio de la frecuencia mediante un procedimiento de filtrado pasa-alto, que atenúa las componentes de baja frecuencia sin modificar la información de la transformada de Fourier contenida en las componentes de alta frecuencia.

Un filtro bidimensional paso-alto viene caracterizado por una función de transferencia que verifica la relación.

$$H(u,v) = \begin{cases} 0 & \text{si } D(u, v) \leq D_0 \\ 1 & \text{si } D(u,v) > D_0 \end{cases}$$

Donde $D_0 \rightarrow$ Radio del filtro
 $D(u,v) \rightarrow$ Distancia desde el punto (u,v) hasta el origen.
 $D(u, v) = (u^2 + v^2)^{1/2}$

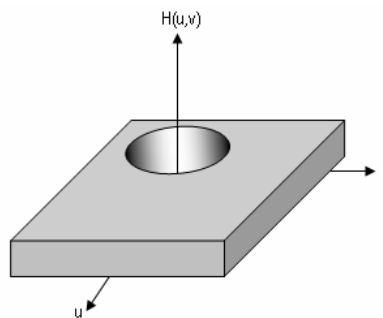


Figura 32. Dibujo en perspectiva de un filtro pasa alto

4.2.2.4 Modelos de Color

4.2.2.4.1 Modelo RGB

Este modelo es el más utilizado para visualizar imágenes digitales en una pantalla en los formatos actuales. Es un modelo aditivo, en el que sumando distintas cantidades de colores primarios podemos conseguir otros colores. En los archivos gráficos que utilizan este modelo se representa una tripleta (R,G,B).

El modelo RGB contiene tres planos de imágenes independientes, uno por cada color primario (Rojo, Verde, Azul). Cuando estos planos se inyectan a un monitor que utiliza este sistema, la pantalla de fósforo reproduce una imagen a color. Es un sistema aditivo que variando la cantidad de color rojo, verde y azul agregados al negro, se produce nuevos colores. En los archivos gráficos el sistema RGB se usa para representar cada píxel con una tripleta de la forma (R,G,B), quedando representado en un sistema cartesiano como se muestra en la figura 33:

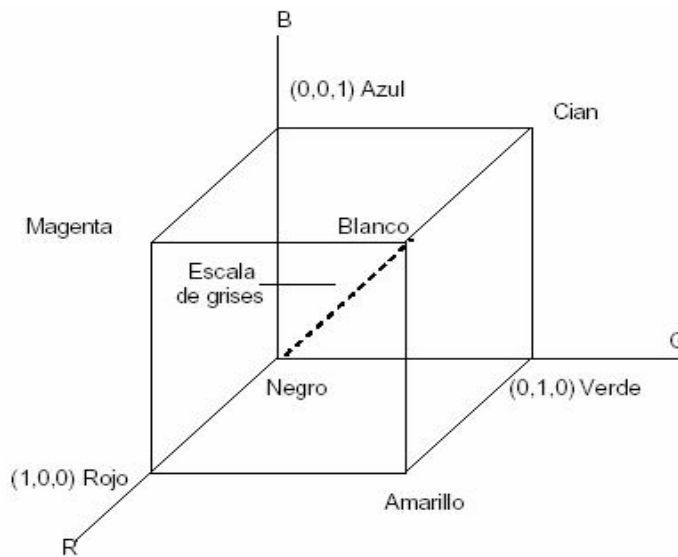


Figura 33. Representación cúbica del modelo RGB normalizado a 1.

En este sistema los colores vienen definidos por un punto en el cubo, así los vértices comunes son los colores secundarios, el origen de coordenadas es el negro, y el punto donde se sumarian los 3 colores primarios será el vértice del color blanco. La línea que une el negro con el blanco representará toda la escala de grises.

A cada píxel, en cada uno de los tres planos, se le asigna un valor entre 0(negro) y 255(blanco). Así, por ejemplo, si se quiere obtener un color rojo para determinado píxel, se debe asignar un valor alto a la coordenada del rojo y valores más pequeños a las otras dos coordenadas. Si todas las coordenadas son 255 el resultado para dicho píxel es un blanco puro; igualmente si todas son 0 entonces es negro.

Las imágenes que utilizan este modelo, pueden reproducir en la pantalla hasta 16.7 millones de colores, ya que tendremos 3 canales (que presentan a cada uno de los planos) y 8 bits para presentar 255 valores, es decir tendremos 3x8 bits de información de color para cada píxel.

4.2.2.4.2 Modelo CMY

Los colores cian, magenta y amarillo son los colores secundarios o de síntesis aditiva. La amplia mayoría de dispositivos que requieren pigmentos coloreados en la formación de los colores requieren la especificación CMY o CMY-K (síntesis sustractiva que se le añade una componente de tinta negra). El sistema CMY o CMY-K esta concentrado en sistemas de impresión. En visiones por computador es raramente usado.

El modelo CMY se obtiene por transformación lineal del modelo RGB esta conversión se realiza por la siguiente ecuación

$$\begin{bmatrix} C \\ M \\ Y \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 \\ 1 \\ 1 \end{bmatrix} - \begin{bmatrix} R \\ G \\ B \end{bmatrix}$$

Donde las componentes de ambos modelos se distribuyen en un rango [0,1]. La ecuación de la transformación anterior demuestra que la luz reflejada por la superficie amarilla pura (Y=1,C=0,M=0), no contiene azul. Igualmente un pigmento magenta puro no refleja luz verde y uno cian luz roja.

4.2.2.4.3 Modelo XYZ

El espacio de color se obtiene por transformación lineal del modelo RGB, para evitar los inconvenientes de los triestímulos espectrales R, G y B pues algunos colores sólo pueden producirse con estímulos negativos. En este caso los colores primarios **XYZ** son imaginarios (No representan una luz física), y al igual que las transformaciones de igualación de color $\bar{x}(\lambda)$, $\bar{y}(\lambda)$, $\bar{z}(\lambda)$, se derivan de los primarios R , G y B.

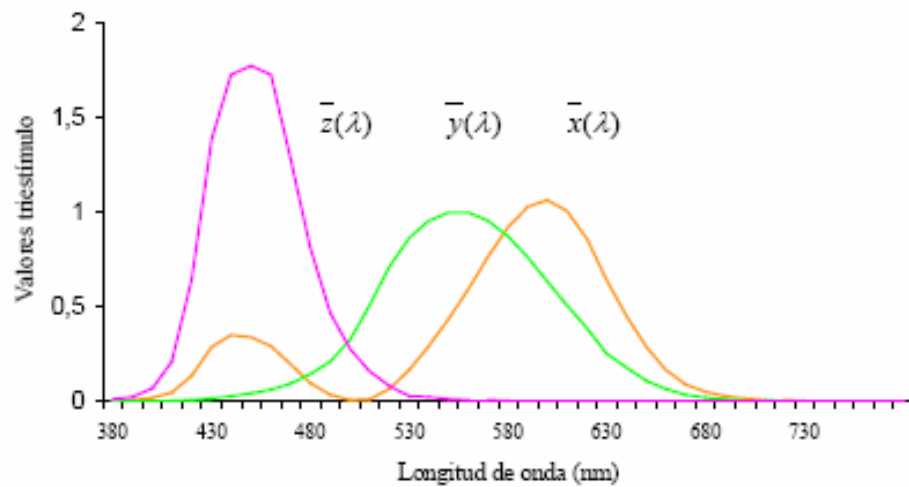


Figura 34. Representación gráfica de colorimetría por la Comisión Internacional de Iluminación (CIE) 1931

La matriz de la transformación de color entre el modelo RGB y el XYZ, para valores en el rango [0,1]

$$\begin{bmatrix} X \\ Y \\ Z \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0.4125 & 0.3576 & 0.1804 \\ 0.2127 & 0.7156 & 0.0722 \\ 0.0193 & 0.1192 & 0.9502 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} R \\ G \\ B \end{bmatrix}$$

La transformación inversa se define como:

$$\begin{bmatrix} R \\ G \\ B \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 3.2405 & -1.5372 & -0.4985 \\ -0.9693 & 1.8760 & 0.0416 \\ 0.0556 & 0.2040 & 1.0573 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} X \\ Y \\ Z \end{bmatrix}$$

El modelo cromático XYZ es independiente del dispositivo y se emplea en la que la representación a color no dependa de la naturaleza del equipo del hardware por ejemplo en sistemas industriales de medición de color. El modelo XYZ es empleado para normalizada de color en los cálculos colorimétricos.

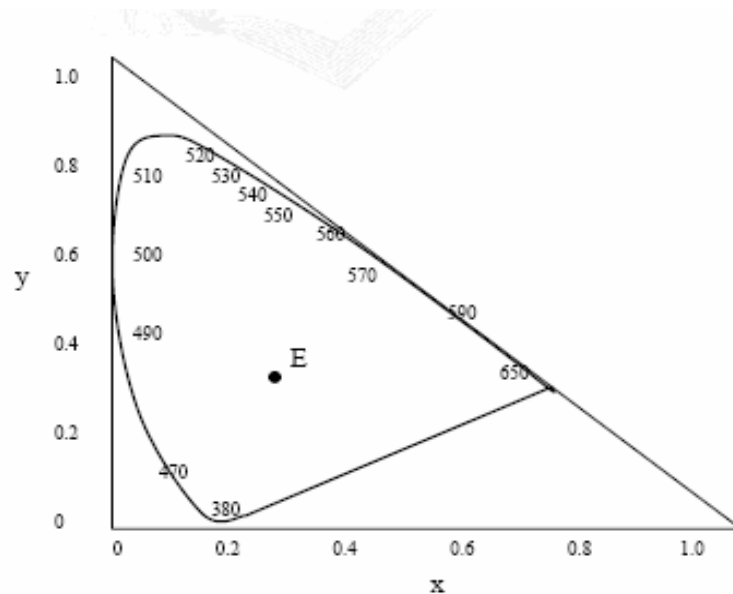


Figura 35. Diagrama cromático xy según estándar de la CIE.

El diagrama de cromaticidad, mostrado en la figura 35, constituye un buen método de especificación de colores, las posiciones de los diferentes colores espectrales (van desde el violeta 380nm hasta el rojo 780nm) y se indica alrededor de la línea curva. Cualquier punto situado no exactamente en el borde pero si dentro del diagrama representa una mezcla de colores del espectro. La coordenada E representa al blanco equienergético, es un punto de igual energía para los tres colores primarios. A medida que el punto se aleja del borde y se aproxima a E le añade mas luz blanca y se hace menos saturado; y la saturación de E es cero.

El diagrama de cromaticidad es útil porque una línea recta que una los dos puntos cualesquiera del diagrama define todas las variaciones de los diferentes colores que puedan obtenerse de los dos primarios de forma aditiva. Para determinar el rango que pueden obtenerse a partir de tres primarios cualesquiera del diagrama, se unen los tres puntos mediante la línea. Los colores del interior del triángulo formados son reproducibles por tres primarios elegidos. Aunque como se observa en el diagrama no todos los colores se pueden obtener por los tres primarios simples, pues no es posible crear un triángulo que albergue todos los puntos del diagrama en su interior.

El papel del modelo XYZ no es tan usado en el Tratamiento Digital de Imágenes (TDI), si bien es requerido como espacio intermedio en realizar transformaciones RGB a otras coordenadas cromáticas L^*a^*b ó L^*u^*v .

Se interpreta que el concepto de espacio de color, como una codificación de las sensaciones cromáticas en vectores tridimensionales que representan coordenadas espaciales, la elección de un modelo cromático depende de la aplicación, en el TDI no existe ningún modelo óptimo para todas las aplicaciones.

En relación a las coordenadas cromáticas de los modelos se derivan del modelo RGB y otros requieren como intermedio el modelo XYZ.

Tabla 2. Resumen de modelos de color.

Espacios de Color		
Modelos	Características	Aplicaciones
RGB	Triestímulos positivos	Cálculos colorimétricos
XYZ	No uniforme Teoría tricomática	Almacenamiento, procesamiento y codificación de imágenes
YIQ, YUV	No uniformes	Transmisión en televisión, comprensión.
CIELAB CIELUV	Uniformes	Sistemas industriales de medida de color. Evaluación en la diferencia de color. Análisis de imágenes.
HSI	Orientado a usuario	Percepción humana del color. Multimedia y análisis de imágenes.

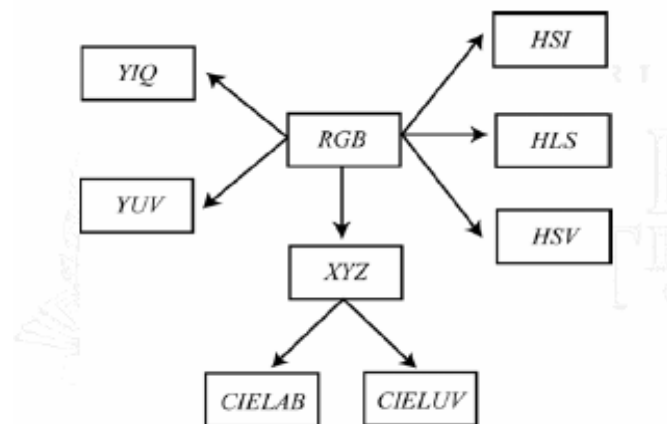


Figura 36. Espacios de Color y su obtención dependiendo del modelo RGB

4.2.3 Segmentación.

El análisis de imágenes consiste generalmente en segmentar la imagen. La segmentación subdivide una imagen en sus partes constituyentes u objetos, esta es una tarea difícil e indispensable para tener éxito en el análisis de la imagen. Los algoritmos de segmentación de imágenes monocromáticas generalmente se basan en una de las dos propiedades básicas de los valores de nivel de gris: discontinuidad y similaridad. En la primera, el método consiste en dividir una imagen basándose en los cambios bruscos de nivel de gris, esto puede ser útil para detección de puntos aislados y la detección de líneas y bordes. La segunda categoría esta basada en la umbralización, crecimiento de región y división y fusión de regiones.

El proceso de segmentación puede llevarse a cabo de dos formas:

- *Segmentación Global:* Se toma toda la imagen para la segmentación. Es decir, se busca separar cada uno de los elementos que se encuentren dentro de toda la imagen.
- *Segmentación Local:* Se enfoca solo en una parte de la imagen. Se extraen los detalles que se necesitan para obtener una identificación del objeto.

- **Umbralización**

La umbralización es uno de los métodos más importantes de la segmentación de imágenes. Considere un histograma que corresponde a una imagen $f(x,y)$, compuesta de objetos luminosos sobre un fondo oscuro, de tal forma que los píxeles de los objetos y el fondo tienen niveles de gris agrupados en dos distribuciones dominantes.

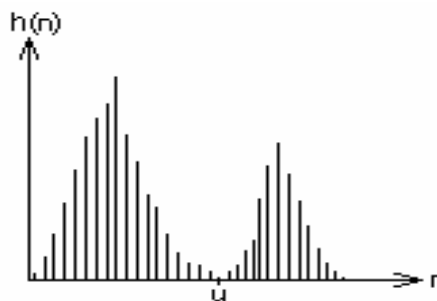


Figura 37. Histograma bimodal

La forma de extraer los objetos del fondo es elegir un umbral u que separe dichas distribuciones. De forma general, una imagen umbralizada $g(x,y)$ se define como:

$$g(x,y) = \begin{cases} 1 & \text{si } f(x,y) > u \\ 0 & \text{si } f(x,y) \leq u \end{cases}$$

La expresión anterior indica que cualquier píxel con nivel de gris $> u$ será etiquetado como blanco (255 si se trabaja en un intervalo de nivel de gris $[0, 255]$), y cualquier píxel con nivel de gris $\leq u$ será etiquetado como negro (0).

4.2.4 Descripción

También denominada selección de rasgos. Consiste en extraer rasgos con alguna información cualitativa de interés o que sean fundamentales para diferenciar una clase de objetos de otra; para ello deben definirse unos descriptores del objeto.

Para representar una región de procesado por computadora se tienen dos posibilidades:

1. Hacerlo en términos de sus características externas (contorno).
2. En términos de sus características internas (los píxeles que comprende la región)

Elegir un esquema de representación es solamente una parte de hacer los datos útiles y que brinden información, así procesarla adecuadamente. El siguiente paso consiste en describir la zona de representación elegida. Por ejemplo, una región se puede representar describiendo su contorno por medio de características tales como su longitud, la orientación de una línea recta que une puntos externos, y el número de concavidades.

Generalmente, se elige una representación externa cuando el objetivo principal se centra en las características de forma y una representación interna cuando el principal interés se centra en las propiedades de reflectividad tales como color y textura. Algunos esquemas de representación son:

- **Descriptores Simples de representación:**

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

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

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

- **Descriptores de Fourier:** Son los coeficientes de la Transformada Discreta de Fourier de una serie, donde las coordenadas de los píxeles son utilizados como una serie de números complejos.
- **Firmas:** Una firma es una representación funcional unidimensional de un contorno y se puede generar de varias formas.
- **Momentos:** Los momentos describen cuantitativamente los lados del contorno y de las firmas.

Referente a las regiones son utilizados algunos descriptores como:

- **Descriptores Simples de región:**

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

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

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

- **Descriptores topológicos:** Son útiles para descriptores globales de regiones, estudia la propiedades de la figura a las que no afecta ninguna deformación, en tanto no hay división horizontal o uniones de la figura (huecos).
- **Textura:** Un método importante para la descripción de regiones consiste en cuantificar su contenido de textura. Aunque no existe una definición formal de la textura, este descriptor proporciona intuitivamente medidas de propiedades tales como suavizado, rugosidad y regularidad.

4.2.5 Reconocimiento e Interpretación.

El Reconocimiento es el proceso que asigna una etiqueta al objeto, basándose en información proporcionada por sus descriptores. La interpretación consiste en asignar significado a un conjunto de objetos reconocidos.

El análisis de imágenes consiste en descubrir, identificar y comprender los patrones relevantes en el rendimiento de un trabajo basado en imágenes y dotar al computador de la capacidad de aproximación similar a los seres humanos. De este modo, un sistema automático de análisis debería ser capaz de ofrecer varios grados de inteligencia. El concepto de inteligencia es algo vago, particularmente con referencia a una máquina. Sin embargo, no resulta difícil expresar el concepto de los diferentes tipos de comportamiento asociados generalmente a la mente:

1. La capacidad de extraer la información de interés, separándola de un conjunto de detalles irrelevantes
2. La capacidad de aprender a partir de ejemplos y generalizar para que se pueda aplicar en nuevas y diferentes circunstancias
3. La capacidad de realizar inferencias a partir de una información incompleta.

5. DESARROLLO DEL MODELO COMPUTACIONAL

5.1 METODOLOGÍA

La metodología que se va a seguir para el desarrollo de la herramienta software va a ser la del Proceso Unificado de Desarrollo de Software, creada por Ivar Jacobson, Grady Booch y James Rumbaugh, miembros de Rational Software Corporation.

Esta metodología busca guiar de manera lógica y ordenada todas las actividades necesarias para lograr el desarrollo óptimo de un sistema; utiliza el Lenguaje Unificado de Modelado (UML) con el cual se preparan todos los componentes de un sistema software.

El Proceso Unificado está fundamentado en los siguientes tres aspectos: Dirigido por casos de uso, centrado en la arquitectura, iterativo e incremental. Para el Proceso Unificado es importante definir claramente los requisitos del usuario, es decir, lo que el usuario quiere que el sistema haga. En el Proceso Unificado, los usuarios no sólo son las personas que van a utilizar el sistema, sino que en algunos casos, pueden ser otros sistemas que requieren algún resultado del sistema en desarrollo. Toda acción que proporcione al usuario un resultado importante se denomina caso de uso. A medida que se van estableciendo casos de uso se le va dando una dirección al proceso de desarrollo de software, razón por la cual se dice que es dirigido por casos de uso.

A la vez que se van recopilando los casos de uso, el desarrollador puede tener una primera idea de lo que podría ser la arquitectura del sistema, la cual va moldeando a medida que este evoluciona y que se van definiendo y especificando los casos de uso con los que cuenta, lo que conlleva a que se haga una mejor constitución de casos de uso.

Una de las ideas principales del Proceso Unificado es dividir el trabajo en partes más pequeñas. Cada una de estas partes es un avance en la construcción del producto, lo que exige que éstas sean hechas de manera planificada con el fin de cumplir con los casos de uso que se han identificado y especificado para cada una de aquellas partes; si esto se cumple se puede pasar a desarrollar otra pequeña parte del proyecto. De esta forma se dice que se hacen iteraciones y a su vez se nota el crecimiento del producto.

Para construir una versión del producto siguiendo esta metodología se tienen que realizar cuatro fases, cada una de las cuales se divide en iteraciones o mini-proyectos, cada iteración pasa por cinco flujos de trabajo como se puede observar en la Figura 38.

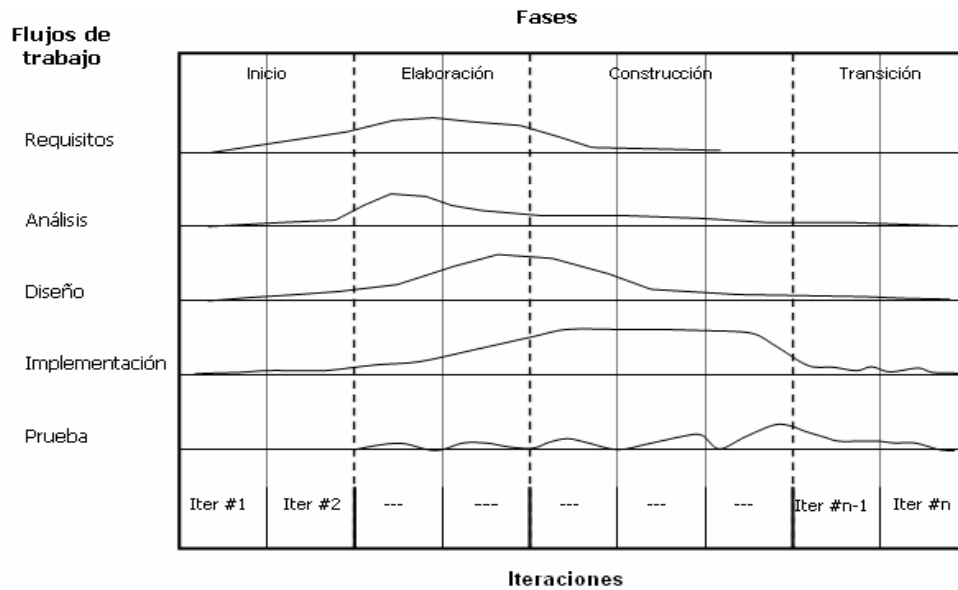


Figura 38. Fases y Flujos de trabajo.

Los flujos de trabajo son:

- **Requisitos:** Su propósito es describir los requisitos del sistema, es decir, lo que el sistema debe hacer de acuerdo a lo discutido entre el usuario y el desarrollador.
- **Análisis:** Su objetivo es lograr una comprensión más precisa de los requisitos y obtener una descripción de éstos que permita estructurar el sistema de una manera más fácil.
- **Diseño:** Su propósito fundamental es formular modelos que se centran en los requisitos no funcionales y el dominio de la solución.
- **Implementación:** Su propósito es la construcción del sistema, es decir, la elaboración del código fuente, interfaces, ejecutables, etc.
- **Prueba:** Su objetivo es comprobar el resultado de la implementación mediante pruebas.

Las fases de un ciclo son:

- **Inicio:** En esta fase se desarrolla una descripción del producto final a partir del modelo de casos de uso y un esbozo de la arquitectura provisional del sistema. Además, se planifica en detalle la fase de elaboración.
- **Elaboración:** Se especifican en detalle la mayoría de los casos de uso y se diseña la arquitectura del sistema. Durante esta fase se realizan los casos de uso más críticos detectados en la fase de inicio. Además se planifican las actividades y se estiman los recursos necesarios para terminar el proyecto.
- **Construcción:** Se consolida la arquitectura del sistema, lo que permite construir el sistema de acuerdo a los casos de uso que se habían establecido.
- **Transición:** Se verifica si realmente se cumplió con los objetivos propuestos, de no ser así, se hacen las respectivas correcciones para poder entregar el producto final.

Por las características de esta metodología, se ha analizado que es una buena forma de desarrollar organizadamente este proyecto, debido a que se tiene un control de las actividades con respecto al tiempo; además se acomoda al tipo de investigación que requiere verificaciones durante todo el desarrollo.

Para definir el caso de uso o las acciones que proporcionan un resultado relevante como se planteó en el objetivo general consiste en clasificar las células de Neoplasia Intraepitelial Cervical de grado III (NIC III), donde el actor es el Médico Patólogo.

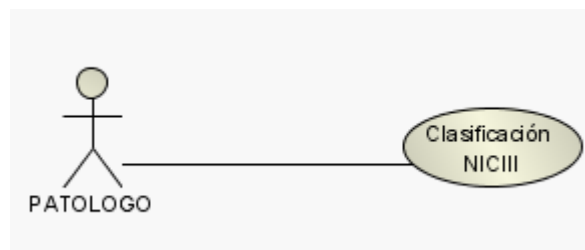


Figura 39. Diagrama Casos de Uso

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

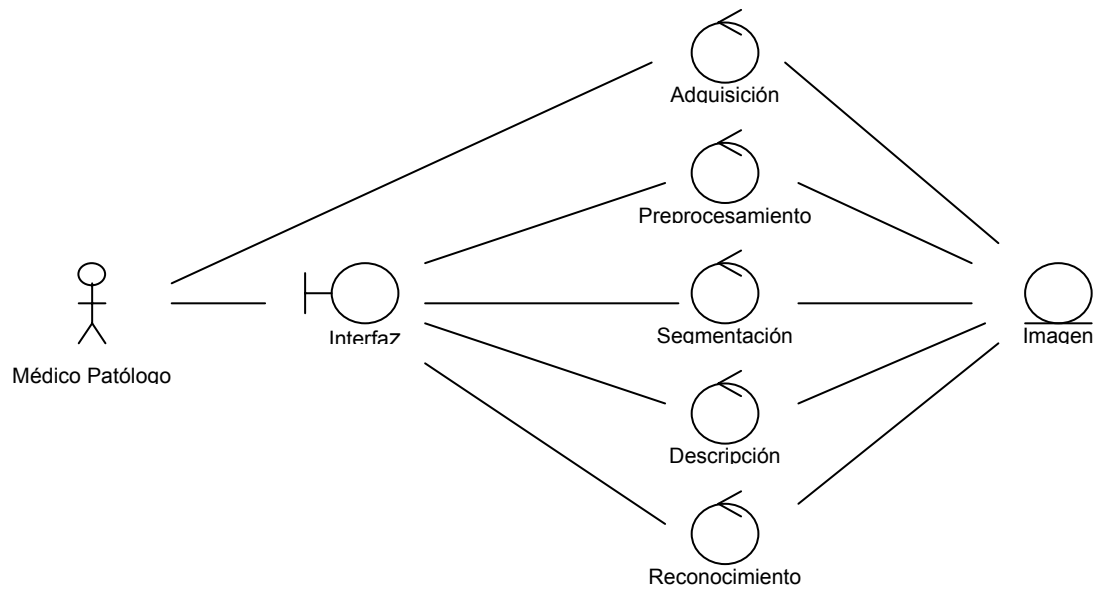


Figura 40. Diagrama del Modelo de análisis.

6. ADQUISICIÓN

Para la adquisición de las tomas durante el proyecto se construyeron dos modelos de adquisición. Se varió cada uno de los componentes necesarios para realizarlo: cámaras y dispositivos digitalizadores.

El modelo inicial consistió en una tarjeta de adquisición de vídeo MPEG TV Station de tipo USB conectada al microscopio y a su vez a un Computador Portátil Dell Intel Inside Cetrino con Sistema Operativo Windows XP, Las imágenes fueron almacenadas en el formato TIFF (Tagged Image File Format), con una resolución de 640x480 píxeles y un tamaño aproximado a los 901 Kbytes. Este modelo no fue utilizado, debido a que se observaba poca iluminación, adicional a esto la pantalla del equipo visualizaba en algunos casos una imagen borrosa, dificultando su enfoque

El segundo y último modelo se elaboró en el Departamento de Patología de la Facultad de Salud de la Universidad Industrial de Santander; se utilizó un Microscopio Trinocular (OLYMPUS, MODEL CX31RTSF), el cual permitió un aumento de 40x. Una Cámara Compacta Digital (OLYMPUS, Camedia c-7070 WIDE ZOOM), con conexión USB, ésta almacenaba las imágenes en la memoria para descargarlas posteriormente a un Intel Inside Cetrino con Sistema Operativo Windows XP. Las imágenes tomadas eran guardadas en formato JPEG (Joint Photographic Experts Group), con una resolución de 1600x1200 píxeles y un tamaño aproximado de 1MB, que dio como resultado imágenes con alta definición.

Para la adquisición de las imágenes se buscaron células individuales o en grupos y que mostraran un alto contraste con el fondo; asimismo células cuyos núcleos presentaran rasgos característicos de NIC III, como hiper Cromatismo entre otros ya descritos en el marco conceptual (Ver sección 3.1.3.2.1 Lesión Escamosa Intraepitelial de Alto Grado, HSIL). La figura 41 representa el tipo de imágenes que fueron utilizadas para el desarrollo del proyecto.

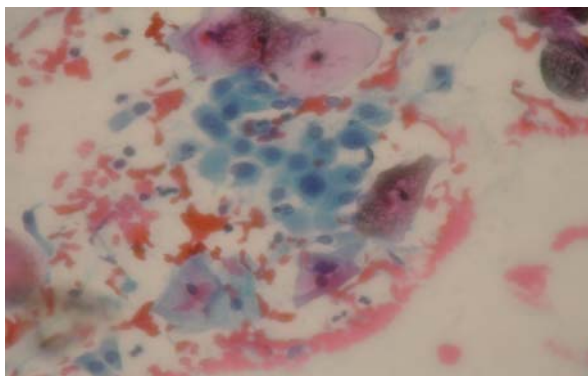


Figura 41. Imagen de NIC III registrada para el proyecto.

Durante la adquisición de las imágenes un aspecto muy importante a tener en cuenta fue la relación micra – píxel; para hacer dicha relación se necesitó una medida conocida, se tomó un cuadrado de 62.5 micras de lado, manteniendo el aumento de 40x dado por el microscopio y el zoom óptico de 4x que utiliza la cámara, con esto se obtuvo que: 62.5 micras equivalían a 247 píxeles. Para que se cumpla dicha relación, todas las imágenes de las células deben tomarse con el mismo aumento y zoom que se empleó para el cuadrado.

7. PREPROCESAMIENTO

Una vez se adquiere la imagen digital, el objetivo principal es el de mejorar la imagen de forma que se aumenten las posibilidades de éxito en los procesos posteriores. Es en esta etapa donde se llevan a cabo los procesos de filtrado. Estos procesos tienen como finalidad eliminar el ruido de la imagen, mejorar el contraste, aislar regiones cuya textura pueda ser de gran importancia; entre otros aspectos que indiquen la probabilidad de información. Asimismo, deben hacerse múltiples pruebas antes de poder encontrar una imagen que se ajuste a las necesidades requeridas.

El filtro empleado para el proyecto fue el filtro pasa bajo promedio, ya que este permitió suavizar las imágenes y homogeneizar las superficies tanto del núcleo como citoplasma.

- **Filtro promedio:** Este filtro promedia el valor del píxel con sus vecinos, su resultado depende del tamaño de la matriz utilizada. Un filtro de tamaño tres está definido de la siguiente manera:

$$1/9 * \begin{bmatrix} 1 & 1 & 1 \\ 1 & 1 & 1 \\ 1 & 1 & 1 \end{bmatrix}$$

A continuación se muestran las formas de las máscaras implementadas por Matlab de algunos filtros pasa – alto, con estos se hicieron pruebas pero los resultados no fueron tan óptimos para sacar los bordes:

1	0
0	-1

Roberts

-1	-1	-1
0	0	0
1	1	1

Prewitt

-1	-2	-1
0	0	0
1	2	1

Sobel

Tampoco fue necesario el uso de filtros frecuenciales.

7.1 TRANSFORMACIONES DE COLOR

Este método de preprocesamiento fue usado para resaltar los núcleos de los citoplasmas y viceversa. También se obtuvo información de color que permitió eliminar regiones que no eran de interés para el análisis o que interferían con la extracción de los núcleos y citoplasmas a estudiar.

7.1.1 Espacio de Color CIE $L^*a^*b^*$

La necesidad de un espacio de color uniforme condujo a la transformación de una serie de transformaciones no lineales del espacio CIE XYZ 1931 que concluyeron en la especificación concreta de una de estas transformaciones en lo que se conoce como espacio de color CIE 1976 ($L^*a^*b^*$) o CIELAB el cual especifica espacios de color en superficies.

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 rojizo-verdoso, y amarillento-azulado, 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.

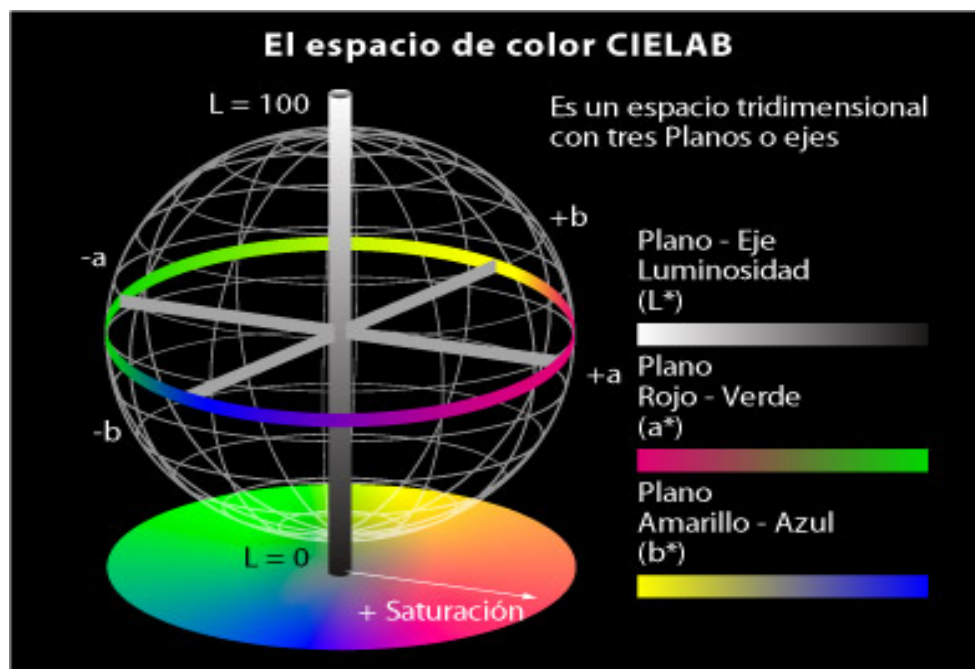


Figura 42. Espacio de color CIELAB

Las proporciones de L^* , a^* y b^* se obtienen de los valores triestímulos de acuerdo con las siguientes transformaciones:

$$\begin{aligned}L^* &= 116[(Y/Y_n)^{1/3} - (16/Y_n)^{1/3}] \\a^* &= 500[(X/X_n)^{1/3} - (Y/Y_n)^{1/3}] \\b^* &= 200[(Y/Y_n)^{1/3} - (Z/Z_n)^{1/3}]\end{aligned}$$

Donde X_n , Y_n , and Z_n son los respectivos valores de X , Y y Z con el iluminante que se haya usado para obtener los valores X , Y y Z de la muestra; y los cocientes de X/X_n , Y/Y_n y Z/Z_n son todos superiores a 0,008856 (cuando alguno de ellos es menor a esa cifra, se usa un conjunto de ecuaciones levemente distinto).

7.1.2 Modelo de Color HSV

El Modelo de definición del color HSV, que define los colores en función de los valores de tres importantes atributos de estos, H (matiz) , S (saturación) y V (brillo).

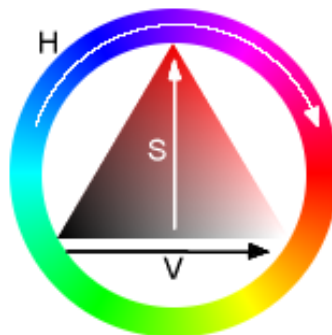


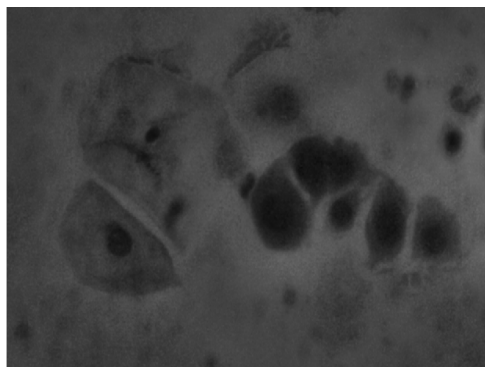
Figura 43. Diagrama representativo del modelo de color HSV

El matiz (Hue) hace referencia al color como tal, por ejemplo el matiz de la sangre es rojo. La saturación o intensidad indica la concentración de color en el objeto. La saturación de rojo de una fresa es mayor que la del rojo de unos labios. Por su parte, el brillo (Value) denota la cantidad de claridad que tiene el color (tonalidad más o menos oscura). Cuando hablamos de brillo hacemos referencia al proceso mediante el cual se añade o se quita blanco a un color.

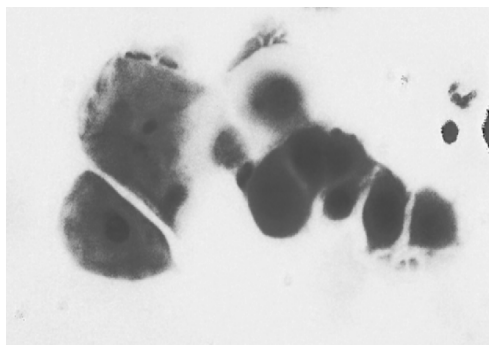
La Figura 44, muestra diferentes transformaciones de color aplicadas en el software.



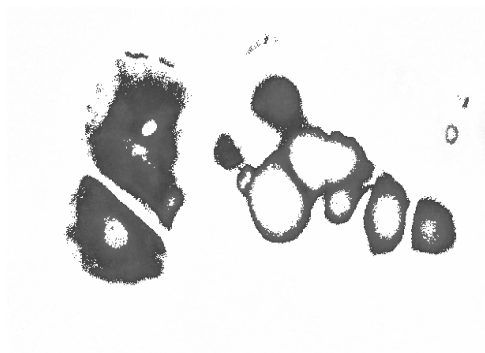
(a)



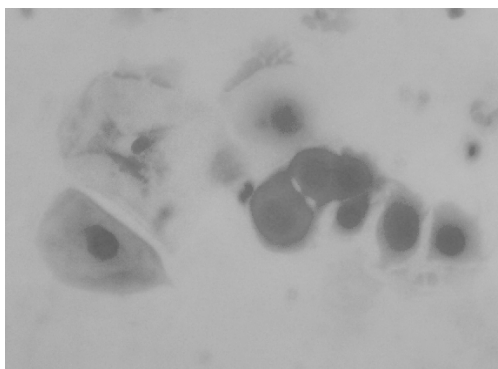
(b)



(c)



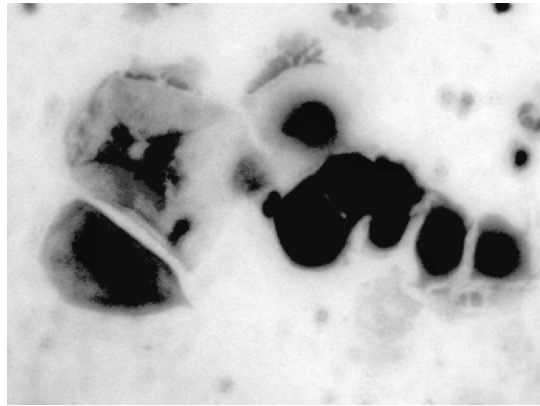
(d)



(e)



(f)



(g)

Figura 44. Diferentes transformaciones de color aplicadas donde: (a) Imagen Original. (b) Imagen convertida del modelo de color sRGB a XYZ. (c), (d), (e), (f) y(g) Imágenes convertidas del modelo de color L*a*b a Srgb, cada una con alguna modificación en los parámetros de contraste.

8. SEGMENTACIÓN

8.1 ALGORITMOS DE SEGMENTACIÓN

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

8.1.1 Método PUN-KAPUR

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

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

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

$$H = H_b + H_w$$

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

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

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



Figura 45. Núcleo segmentado con el método de Pun-Kapur

8.1.2 Método Iterativo

El segundo algoritmo implementado se denomina iterativo. Para la localización del umbral se hacen comparaciones sucesivas entre dos umbrales hasta encontrar el adecuado, el método es el siguiente:

- El primer paso consiste en determinar los dos umbrales iniciales; el primero (U_0) se localiza en cero y el segundo (U_1) en la mediana de los niveles del histograma diferentes a cero.

$$U_0 = 0$$

$$U_1 = \text{mediana de los niveles diferentes a cero}$$

- Se calcula la diferencia entre U_1 y U_0 .

$$Dif = U_1 - U_0$$

- Mientras que el valor absoluto de la diferencia sea mayor que uno, se calculan nuevamente los umbrales de la siguiente manera:

$$U_0 = U_1$$

$$U_1 = \frac{\text{Promedio(Mayores a } U_0) + \text{Promedio(Menores a } U_0)}{2}$$

- Se realiza la comparación de la diferencia hasta que sea menor o igual que uno y se obtiene el umbral adecuado.

$$\text{Umbral} = U_1$$

Este método permitió segmentar en algunas células el núcleo y en otras el citoplasma. Como también se trataba de un método para histogramas bimodales, se aplicó la misma variación diseñada para el método de Kapur, sólo que para este caso no se obtuvieron los resultados esperados. La figura 46 presenta el resultado de aplicar la segmentación por medio de este algoritmo.



Figura 46. Núcleo segmentado con el método Iterativo.

8.2 Método de Iteración del Punto Fijo (FPI)

Localizar el umbral óptimo es extraer el objeto del fondo en la imagen de entrada. En un histograma el umbral óptimo está localizado en el valle; pero en algunos casos este no es tan obvio, y puede ser difícil localizar el umbral. Una forma para obtener el umbral en histogramas bimodales está basada en la entropía y el umbral óptimo está localizado en el nivel de gris de entropía mínima. En general, la mayor parte de los métodos basados en entropía requieren tres pasos en la búsqueda del umbral óptimo.

El primero es determinar el histograma de la imagen. El segundo calcular la entropía correspondiente a cada nivel de gris. El tercero localizar el nivel de gris que tenga la entropía mínima o máxima. Estos tres pasos pueden consumir mucho tiempo, especialmente para imágenes de alta resolución.

Para desarrollar este método de segmentación se planteó un algoritmo numérico o rápido para encontrar el umbral óptimo para la segmentación de la imagen en escala de grises basado en el punto fijo de iteración (FPI). Así el umbral óptimo puede encontrarse sin necesidad de calcular la entropía para cada nivel de gris. Como resultado, el algoritmo propuesto es desarrollado para ser muy rápido en localizar el umbral sin perder eficacia. Existen otros algoritmos numéricos para extraer el nivel de gris certero como por ejemplo el método de la secante, Newton Raphson, de Bisección y el método de iteración del punto fijo (FPI), por nombrar algunos.

Una iteración de punto fijo para una función dada $g(p)$ es un numero cualquiera p para el cual $g(p) = p$, estos valores se obtienen secuencialmente. Esto es útil para encontrar las raíces de la función como se ve en la siguiente figura 47.

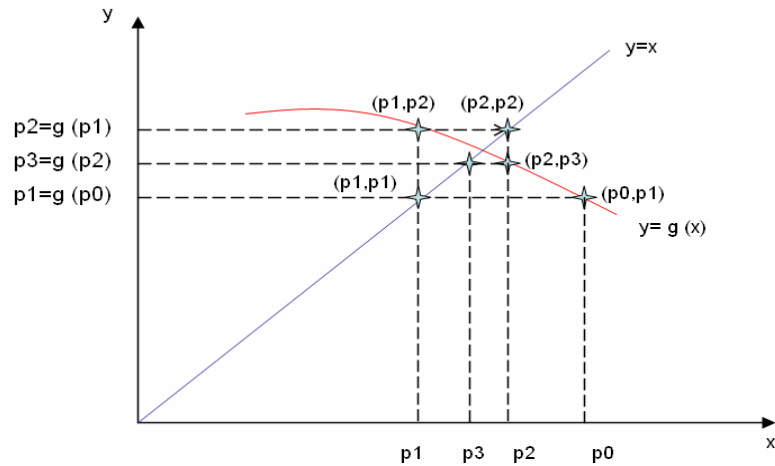


Figura 47. Ejemplo del método de Iteración del Punto Fijo

Para encontrar el nivel de gris de menor entropía primero se define una ecuación lineal $f(x) = ax+b$ y las constantes a y b basadas en las entropías definidas para este método de la siguiente manera.

Para este método a diferencia del kapur la entropía usada fue solo la entropía del fondo H_b

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

Conociendo la formula para hallar la entropía H_b podemos decir que las constantes están dadas así:

$$\text{Curva } a = \begin{cases} \frac{[E(g_{\max}) + E(g_{\min})]}{\ln[(g_{\max} + g_{\min})] - 2 g_{\min}} & \text{si } E(g_{\min}) < E(g_{\max}) \\ \frac{[E(g_{\max}) + E(g_{\min})]}{\ln[(g_{\max} + g_{\min})] - 2 g_{\max}} & \text{si } E(g_{\min}) > E(g_{\max}) \end{cases}$$

$$b = E(g_{\max}) - a \cdot g_{\max}$$

Donde E es la entropía, de gmin siendo el mínimo nivel de gris o gmax siendo el máximo nivel de gris del histograma.



Figura 48. Núcleo segmentado con el método de Iteración del Punto Fijo

8.2.1 Método ISODATA

Este es el método propuesto por Ridler y Calvard, el cual cambia el valor del umbral por medio de un proceso de relajación. La técnica usada es adaptativa y no involucra los histogramas y se obtiene mediante los siguientes pasos:

Primero, segmenta la imagen en dos partes usando el nivel de gris intermedio

$$t_0 = \sum_{x,y} f(x,y) / N$$

Donde $f(x, y)$ es el nivel de gris de cada píxel y N es el número total de píxeles.

Luego se calcula la media muestral de los niveles de gris del objeto y el fondo y se calcula la media aritmética de las dos medias muestrales así:

$$t_n = \frac{1}{2} \left[\frac{\sum_{x,y} f(x,y) * T_{n-1}(x,y)}{M_{n-1}} + \frac{\sum_{x,y} f(x,y) * \overline{T_{n-1}(x,y)}}{N_b - M_{n-1}} \right]$$

Donde $T_n(x, y)$ es la imagen binarizada con el umbral t_{n-1} , N_b es el número de píxeles menores que el umbral t_{n-1} y diferente de cero.

El proceso es repetido hasta que se cumpla la condición $t_n = t_{n-1}$.



Figura 49. Núcleo segmentado con el método de Isodata

8.3 MORFOLOGÍA MATEMÁTICA

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

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

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

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

8.3.1.1.1 Dilatación Binaria ($\oplus$)

Una dilatación es una transformación morfológica que combina dos conjuntos usando adición vectorial. Su símbolo es $\oplus$ y su resultado será una imagen “engordada”.

La dilatación de un conjunto A con un conjunto B esta definida por:

$$A \oplus B = \{c \mid c = a + b, a \in A, b \in B\}$$

Donde A representa a imagen y B un segundo conjunto que es llamado *elemento estructurante* y su composición define la naturaleza específica de la dilatación.

8.3.1.1.2 Erosión Binaria ($\ominus$)

Una erosión básicamente encoge una imagen y puede ser vista como una transformación morfológica que combina dos conjuntos usando vectores de sustracción. Esta se expresa como una intersección de A y B:

$$A \ominus B = B \cap A.$$

Una erosión de una imagen A con un elemento estructurante B puede ser definida como:

$$A \ominus B = \{x \mid x + b \in A \text{ para todo } b \in B\}$$

8.3.1.1.3 Apertura (opening)

En general, una apertura suaviza el contorno de una imagen y elimina prominencias delgadas, aunque también es usada para remover ruidos de una imagen. La apertura de un conjunto A por un elemento estructurante B es denotada por $A \circ B$ y definida como:

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

Una operación de apertura es una erosión seguida de una dilatación usando un mismo elemento estructurante; dicha operación, tiende a abrir pequeños vacíos o espacios entre objetos próximos en una imagen.

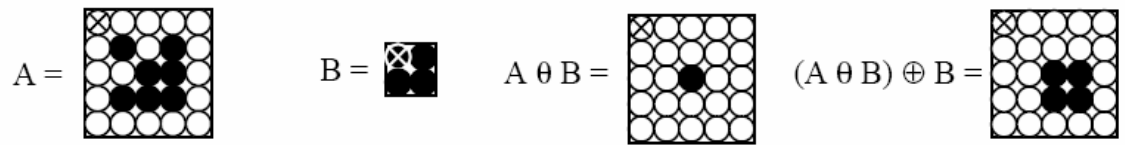


Figura 50. Descripción gráfica del proceso de Apertura.

8.3.1.1.4 Cierre (closing)

El cierre rellena pequeños quiebres y abre espacios angostos eliminando pequeños orificios, entonces, si una apertura crea pequeños vacíos en la imagen, un cierre irá a llenar o cerrar los vacíos, estas operaciones pueden remover muchos de los píxeles blancos con ruidos.

Una operación de cierre es una dilatación seguida de una erosión usando un mismo elemento estructurante, y se define como:

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

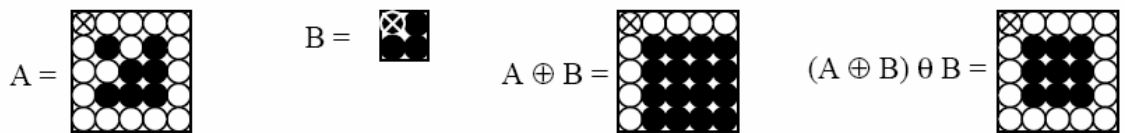


Figura 51. Descripción gráfica del proceso de Cierre.

9. DESCRIPTORES

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

Los parámetros utilizados para describir el núcleo son:

- **Área:** calculada como el número de píxeles en blanco de la imagen binaria que contiene el núcleo.
- **Perímetro:** calculado como el número de píxeles en blanco de la imagen binaria que contiene el borde del núcleo.
- **Ejes:** calculados como los ejes de la elipse con el segundo momento igual a la región del núcleo.
- **Circularidad:** relación entre el cuadrado del perímetro y el área, esta medida permite conocer la tendencia circular del núcleo. Si un objeto presenta esta forma geométrica el valor es 4π .
- **Niveles de Color:** para cada plano de color (R, G, B) de la imagen adquirida, se obtienen el nivel menor, la moda, el nivel mayor y el promedio de la región que contiene el núcleo.
- **Firma:** Una firma es una representación funcional unidimensional de un contorno y se puede generar de varias formas. Una de las más simples es representar la distancia desde el contorno como una función de ángulo. Sin embargo, independientemente de cómo se genere la firma la idea básica es reducir la representación del contorno a una función bidimensional, que presumiblemente es más fácil de describir que el contorno original bidimensional.

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

Para la descripción del citoplasma se utilizan:

- **Área:** calculada como el número de píxeles en blanco de la imagen binaria que contiene el citoplasma.
- **Perímetro:** calculado como el número de píxeles en blanco de la imagen binaria que contiene el borde del citoplasma.
- **Ejes:** calculados como la longitud de los ejes de la elipse con el segundo momento igual a la región del citoplasma.
- **Relaciones Núcleo/Citoplasma:** llamada también Radio N/C, indica la proporción entre el tamaño del núcleo y el citoplasma; se calcula para el área, el perímetro y los ejes. Con el fin de determinar las medidas del área, el perímetro y los ejes en las unidades utilizadas para la medición de las células, se calculó una relación entre un píxel y la cantidad de micras contenidas en esta área como se explico en la adquisición de las imágenes.

10. RECONOCIMIENTO E INTERPRETACIÓN

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

A pesar de que la IA tiene una fuerte connotación en la ciencia ficción, forma una rama vital en las ciencias de la computación, la cual lidia con el comportamiento inteligente, el aprendizaje y la adaptación en las máquinas. La investigación en el campo de la IA se relaciona con la producción de máquinas para la automatización de tareas que requieran un comportamiento inteligente. Algunos ejemplos se encuentran en el área de control de sistemas, calendarización y planificación automática, la habilidad de responder a diagnósticos y a consultas de los consumidores, reconocimiento de escritura, reconocimiento del habla y reconocimiento facial. De este modo, se ha convertido en una disciplina científica, enfocada en proveer soluciones a problemas de la vida diaria. Los sistemas de IA actualmente son parte de la rutina en campos como economía, medicina, ingeniería y la milicia, a si como se ha usado en gran variedad de aplicaciones de software, juegos de estrategia como ajedrez de computador y otros videojuegos.

10.1 SISTEMA BASADO EN CONOCIMIENTO

Es el resultado de un largo proceso de investigación realizado por los científicos en el área de la Inteligencia Artificial, cuando, en los años setenta, comenzaron a comprender que la capacidad de un programa de ordenador para resolver problemas no reside en la expresión formal ni en los esquemas lógicos de inferencia que emplea sino en el conocimiento que posee.

Un experto es alguien que posee unos determinados conocimientos y experiencia en un campo de la actividad humana y es capaz de aplicarlos con rapidez y eficiencia en la resolución de tareas diferentes aunque no le hayan sido encomendadas con anterioridad, pero que caen dentro de su dominio.

Así, un sistema basado en el conocimiento es un cuerpo de programas de ordenador que intenta imitar e incluso superar en algunas situaciones a un experto humano en un ámbito concreto de su actividad. No pretende, en absoluto, reproducir el pensamiento humano, sino simplemente la pericia de un profesional competente (téngase en cuenta que para construir un SBC se suele contar con grandes expertos en la materia que incorporan su conocimiento al sistema).

10.1.1 Estructura de un Sistema Basado en el Conocimiento:

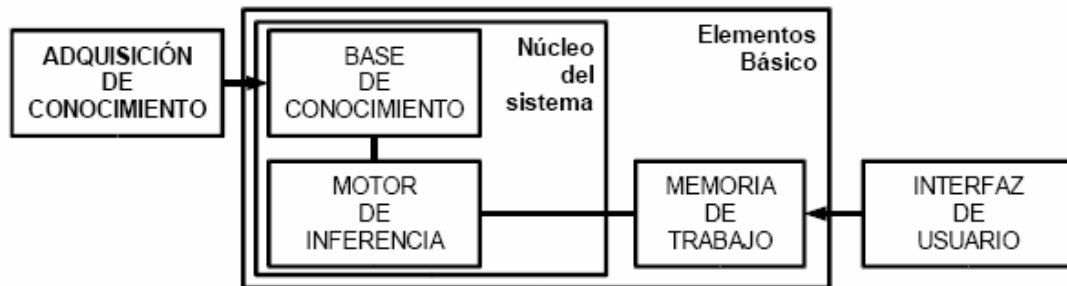


Figura 52. Estructura del Sistema Basado en el Conocimiento

- **Adquisición de Conocimiento:** Elemento para modificar la Base de Conocimiento, esto lo debe realizar un experto o ingeniero de conocimiento.
- **Base de Conocimiento:** Conjunto de conocimientos aplicables al dominio concreto, esto es un elemento estático (salvo actualizaciones).

Los parámetros almacenados en la base de conocimiento han sido agrupados de la siguiente manera:

- Medidas del Núcleo (Área, Perímetro, Eje Mínimo, Eje Máximo).
 - Medidas del Citoplasma (Área, Perímetro, Eje Mínimo, Eje Máximo).
 - Textura del Núcleo (Rojo Promedio, Rojo Mínimo, Rojo Moda, Rojo Máximo, Verde Promedio, Verde Mínimo, Verde Moda, Verde Máximo, Azul Promedio, Azul Mínimo, Azul Moda, Azul, Máximo, Homogeneidad Rojo, Homogeneidad Verde, Homogeneidad Azul, Contraste Rojo, Contraste Verde, Contraste Azul).
 - Relaciones Núcleo/Citoplasma. (Área, Perímetro, Eje Mínimo, Eje Máximo).
- **Motor de Inferencia:** Algoritmo para manipular los conocimientos y solucionar los problemas propuestos.

Para el diseño del motor de inferencia se utilizó la regla de Modus Ponens, que aplica el siguiente teorema:

$$\text{Si } p(X) \rightarrow q(X) \text{ es verdadero}$$

Si se confirma $p(a)$, entonces se concluye que $q(a)$ es verdadero.

- **Memoria de Trabajo:** Almacena los datos proporcionados, es un elemento dinámico.
- **Interfaz de Usuario:** permite al usuario proporcionar hechos y datos, y al sistema realizar preguntas y proporcionar consejos y explicaciones.

11. BASE DE DATOS

Las tablas usadas en el modelo Entidad/Relación son:

- **PACIENTES:** Almacena los datos personales del paciente y los factores epidemiológicos como Enfermedades de Transmisión Sexual, Dispositivo Intrauterino, Post-Menopausia, Radioterapias o Abortos. Tiene relación con la tabla imágenes, vincula las imágenes de citología cervicouterina con su respectivo paciente.
- **IMÁGENES:** Almacena la información de las imágenes como fecha de la toma y la dirección en disco de la imagen. Se relaciona con la tabla de pacientes, núcleos y citoplasmas.
- **NÚCLEO:** Almacena la información extraída de los núcleos de la imagen por medio del tratamiento digital de imágenes.
- **CITOPLASMA:** Almacena la información extraída de los citoplasmas de la imagen por medio del tratamiento digital de imágenes.

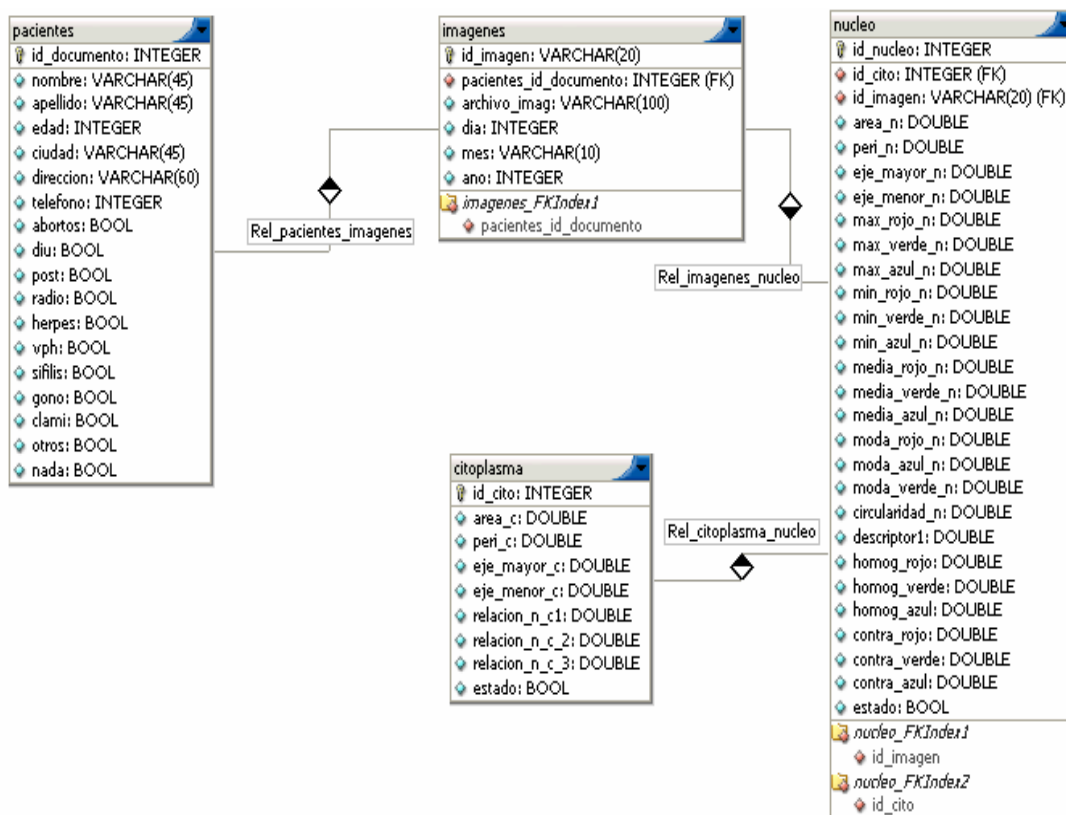


Figura 53. Tablas Entidad/Relación empleadas en la Base de Datos

Tabla del sistema Basado en el conocimiento

- **LIMITES:** Contiene los intervalos de las medidas extraídas de núcleos y citoplasmas de células individuales.

limites	
area_n_min: DOUBLE	
area_n_max: DOUBLE	
peri_n_min: DOUBLE	
peri_n_max: DOUBLE	
eje_menor_n_min: DOUBLE	
eje_menor_n_max: DOUBLE	
eje_mayor_n_min: DOUBLE	
eje_mayor_n_max: DOUBLE	
media_roja_min: DOUBLE	
media_roja_max: DOUBLE	
media_verde_min: DOUBLE	
media_verde_max: DOUBLE	
media_azul_min: DOUBLE	
media_azul_max: DOUBLE	
moda_roja_min: DOUBLE	
moda_roja_max: DOUBLE	
moda_verde_min: DOUBLE	
moda_verde_max: DOUBLE	
moda_azul_min: DOUBLE	
moda_azul_max: DOUBLE	
min_roja_min: DOUBLE	
min_roja_max: DOUBLE	
min_verde_min: DOUBLE	
min_verde_max: DOUBLE	
min_azul_min: DOUBLE	
min_azul_max: DOUBLE	
max_rojo_min: DOUBLE	
max_rojo_max: DOUBLE	
max_verde_min: DOUBLE	
max_verde_max: DOUBLE	
max_azul_min: DOUBLE	
max_azul_max: DOUBLE	
area_c_min: DOUBLE	
area_c_max: DOUBLE	
peri_c_min: DOUBLE	
peri_c_max: DOUBLE	
eje_menor_c_min: DOUBLE	
eje_menor_c_max: DOUBLE	
eje_mayor_c_min: DOUBLE	
eje_mayor_c_max: DOUBLE	
rel_area_min: DOUBLE	
rel_area_max: DOUBLE	
rel_eje_menor_min: DOUBLE	
rel_eje_menor_max: DOUBLE	
rel_eje_mayor_min: DOUBLE	
rel_eje_mayor_max: DOUBLE	
descriptor1_min: DOUBLE	
homo_rojo_min: DOUBLE	
homo_rojo_max: DOUBLE	
homo_verde_min: DOUBLE	
homo_verde_max: DOUBLE	
homo_azul_min: DOUBLE	
homo_azul_max: DOUBLE	
contra_rojo_min: DOUBLE	
contra_rojo_max: DOUBLE	
contra_verde_min: DOUBLE	
contra_verde_max: DOUBLE	
contra_azul_min: DOUBLE	
contra_azul_max: DOUBLE	
limites_FKIndex1	
nucleo_id_nucleo	

Figura 54. Tabla del Sistema Basado en el Conocimiento.

12. MODELO COMPUTACIONAL

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

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

- Se requiere que las imágenes adquiridas posean las características mencionadas con anterioridad en el capítulo de Adquisición.
- Estas imágenes deben estar guardadas en disco en una carpeta llamada **imagenesnic3**, en la dirección *C:\imagenesnic3* y el nombre de cada imagen debe estar encabezado por la cedula o la identificación única de cada paciente.
- En la imagen a procesar se encuentran células individuales o un grupo de células.
- Se realiza el preprocesamiento de las imágenes.
- Se encuentran las regiones de núcleo y citoplasma.
- Se calculan los parámetros de los núcleos y citoplasmas para relacionarlos en la base de datos.
- Por medio del Sistema Basado en el Conocimiento se clasifica teniendo en cuenta las características de núcleo y citoplasma de acuerdo a los parámetros.

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

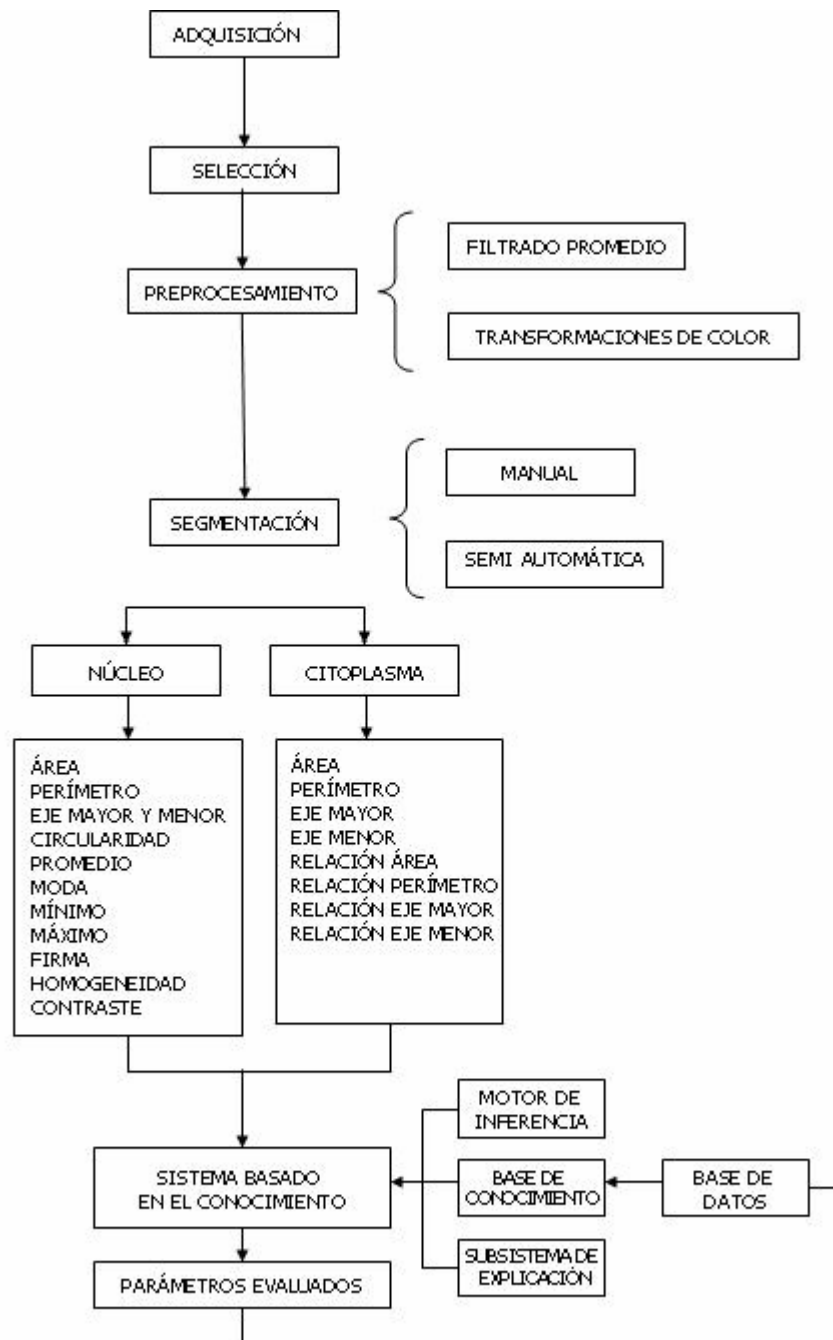


Figura 55. Diagrama del Modelo Computacional.

13. RESULTADOS

La caracterización de las células que presentan factores de Neoplasia Intraepitelial Cervical III (NIC III), se llevó a cabo por medio del Sistema Basado en el Conocimiento. Para ello se calcularon los valores límite de los parámetros criterio, tenidos en cuenta a lo largo del proceso (Ver capítulo 10), y que servirán como referencia para la posterior clasificación de células cervicouterinas obtenidas de placas de citología.

La asignación de pesos a cada uno de los parámetros les otorga un valor cuantitativo, determinando así su grado de importancia para la clasificación. Esto último implica que de los datos de los parámetros, obtenidos en el software, depende la determinación de una probabilidad que establecerá en qué porcentaje las células tratadas favorecen Neoplasia Intraepitelial Cervical III (NICIII). Por tanto, si los datos de los parámetros con mayor peso caen dentro de los límites establecidos, entonces las células en estudio favorecerán NIC III en más alto porcentaje que una cuyos parámetros caigan fuera de estos rangos.

La figura 56 y 57 muestra los rangos encontrados, las unidades que expresan el área se encuentran en micras cuadradas, las longitudes en micras, los colores en nivel encontrado y los valores de distancia adimensionales.


limites_datos_nucleo_citoplasma

<i>PARAMETROS</i>	<i>VALORES MAXIMOS</i>	<i>VALORES MINIMOS</i>
NUCLEO		
AREA(micras cuadradas)	568.5	94.3124
PERIMETRO(micras)	90.574	36.7039
EJE MAYOR(micras)	30.03	12.0978
EJE MENOR(micras)	24.2217	19.4134
CIRCULARIDAD	17.3779	13.8871
CONTORNO	38.732	1.12968
CITOPLASMA		
AREA(micras cuadradas)	1388.76	208.409
PERIMETRO(micras)	163.531	60.0912
EJE MAYOR(micras)	48.3755	19.4134
EJE MENOR(micras)	38.2191	13.1332
RELACIONES		
AREA	0.74157	0.256757
EJE MAYOR	0.910283	0.502904
EJE MENOR	0.853805	0.501273

CARGAR DATOS

Figura 56. Parámetros de relación Núcleo/Citoplasma de Células NIC III

limites_descripcion_nucleo

PARAMETROS	VALORES MAXIMOS	VALORES MINIMOS
NUCLEO		
Rojo Maximo	151	90
Verde Maximo	137	101
Azul Maximo	151	129
Rojo Minimo	90	25
Verde Minimo	101	21
Azul Minimo	129	46
Rojo Promedio	114	62.0133
Verde Promedio	118.528	52.1333
Azul Promedio	140.409	85.5588
Rojo Moda	118.528	52.1333
Verde Moda	117	38
Azul Moda	140.409	85.5588
Rojo Homogeneidad	0.617009	0.489117
Verde Homogeneidad	0.64948	0.492271
Azul Homogeneidad	0.653657	0.52586
Rojo Contraste	576.831	190.492
Verde Contraste	602.128	78.2609
Azul Contraste	801.19	230.595

CARGAR

Figura 57. Parámetros de Núcleo de Células NIC III

14. CONCLUSIONES

- Se diseñó un software prototipo llamado DIAGNOSIS NIC III, donde se desarrollaron algoritmos y funciones de preprocesamiento (transformaciones de color), segmentación, descripción y caracterización de imágenes de células escamosas cervicouterinas que favorecen Neoplasia Intraepitelial Cervical III (NIC III), para aplicar un análisis que permite obtener los parámetros característicos de dichas células estandarizados en el Sistema Internacional de Clasificación Bethesda.
- Se desarrollaron y optimizaron algoritmos de segmentación que permitieron la posterior extracción de las características criterio para la clasificación de células con factores específicos de NICIII. Los procedimientos matemáticos implementados se basaron en la entropía, por medio del Método de Iteración del Punto Fijo (FPI) y en el método Isodata de Ridler y Calvard.
- Se desarrollaron e implementaron algoritmos que posibilitaron la extracción de rasgos nucleares característicos importantes y determinantes para la clasificación; tales como: textura, distribución de la cromatina, alteración en el contorno, circularidad, tamaño (relación núcleo/citoplasma). Lo anterior se realizó tanto para células sueltas como para grupos de células con núcleos en monocapa; para este último caso (células en grupos) se analizó la pérdida de la polaridad nuclear, agregados sincitiales y el posicionamiento de las células en hilera india.
- Se diseñó e implementó una Base de Datos, que almacena tanto la información clínica de las pacientes, como los resultados de los valores obtenidos mediante el análisis llevado a cabo durante cada una de las etapas del Tratamiento Digital de Imágenes realizado, facilitando así al patólogo (usuario final) consultar la información de este estudio, con los datos de registro y análisis de Imágenes en futuras pacientes.
- En este proyecto se trabajó sobre una muestra de 20 Imágenes de células escamosas cervicouterinas, tomadas de placas de citología corroboradas por biopsia como positivo para Neoplasia Intraepitelial Cervical III (NICIII); hallando medidas y datos estadísticos de los criterios tenidos en cuenta para la clasificación; tal como se presenta en el capítulo de resultados descrito en este libro.
- DIAGNOSIS NIC III está en capacidad de calcular medidas y datos estadísticos de los criterios tenidos en cuenta por el Sistema Internacional de Clasificación Bethesda; de acuerdo a esto, clasificar una célula suelta

o grupo de células con núcleos en monocapa como favorables o no favorables para Neoplasia Intraepitelial Cervical III (NIC III).

- DIAGNOSIS NIC III cuenta con una interfaz gráfica permitiendo al patólogo una fácil interacción con la herramienta durante el proceso de análisis de la Imagen médica.
- El sistema basado en el conocimiento (Inteligencia Artificial) demostró ser una herramienta óptima para realizar la clasificación de las células presentes en las imágenes analizadas.

15. RECOMENDACIONES

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

BIBLIOGRAFÍA

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

BIBBO, Marluce. Comprehensive Cytopathology. Second edition. W.B. Saunders

Pitman MB, Cibas ES, Powers CN, Renshaw AA, Frable WJ. Reducing or eliminating use of the category of atypical squamous cells of undetermined significance decreases the diagnostic accuracy of the Papanicolaou smear. *Cancer*. 2002 Jun 25; 96(3):128-34.

Pundel JP, Lichtfus C: La pycnose nucleaire des cellules vaginales. *Bull Soc R Belge Gynecol Onstet* 26:630,1956.

Raab SS, Steiner AL, Hornberger J. The cost-effectiveness of treating women with a cervical vaginal smear diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 179:411-20.

REY SERNA, Adrian Marcela. CASTILLO CASTELBLANCO, Sergio Fernando, TORRES, Yezid. Caracterización y procesamiento digital de imágenes celulares. Tesis de grado. Bucaramanga. 1990. 87 p.

Robert L. Ehrmann, m.d. Bening to malignant progression in cervical squamous epithelium. *iguaku – shoin medical publishers tokyo* 1994

SÁNCHEZ NOGUERA, Jorge Mario. SOTAQUIRÁ GUTIERREZ Miguel Angel. GUALDRÓN GONZÁLEZ, Oscar. VARGAS, Clara Inés. Obtención de Cariotipos Mediante Procesamiento de Imágenes. Tesis de Grado. Bucaramanga. 2001. 78 p.

Sawaya GeorgeF, Brown Adalstein, Washington A.E, Garber, A. Current approaches to cervical – Cancer Screening. *NEngl J Med* Vol344, N° 21 Mayo 24 .2001 1603 -1607.

Sigurdsson, K. Quality assurance in cervical cancer screening: the Icelandic experience 1964-1993. *Eur J Cancer* 1995; 31A(5): 72834.

Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, Raab S, Sherman M, Wilbur D, Wright T Jr, Young N; Forum Group Members; Bethesda 2001 Workshop. The 2001 Bethesda System: Terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA* 2002; 287:2114-9.

Solomon D, Frable WJ, Vooijs GP, Wilbur DC, Amma NS, Collins RJ, Davey DD, Knight BK, Luff RD, Meisels A, Navin J, Rosenthal DL, Sauer T, Stoler M, Suprun HZ, Yamauchi K. ASCUS and AGUS criteria. International Academy of Cytology Task Force summary. *Diagnostic Cytology Towards the 21st Century: An International Expert Conference and Tutorial. Acta Cytol.* 1998 Jan-Feb;42(1):16-24

Stoler MH. New Bethesda terminology and evidence-based management guidelines for cervical cytology findings. *JAMA* 2002; 287:2140-1.

Stoler MH, Schiffman M. Interobserver reproducibility of cervical cytologic and histologic interpretations: realistic estimates from the ASCUS-LSIL Triage Study. JAMA 2001; 285:1500-5.

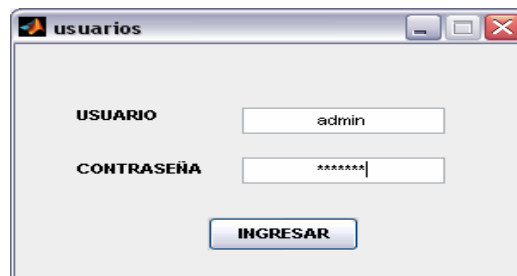
TRISTANCHO CELIS Luz Stella, CASTRILLÓN DÍAZ, Luis Eduardo, GARCÍA AYALA, Ernesto, MENDOZA CASTELLANOS, Alfonso. SUESCÚN, Pedro. Diseño e implementación de un sistema software de visión artificial para el reconocimiento del grado de avance del cáncer en células de muestras citológicas del cérvix uterino basado en el criterio del agrandamiento del núcleo. Tesis de grado. Bucaramanga. 1995. 120 p.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BUCARAMANGA. Registro Poblacional de Cáncer del Área Metropolitana de Bucaramanga. 2000 – 2001.

ANEXO A. MANUAL DE USUARIO

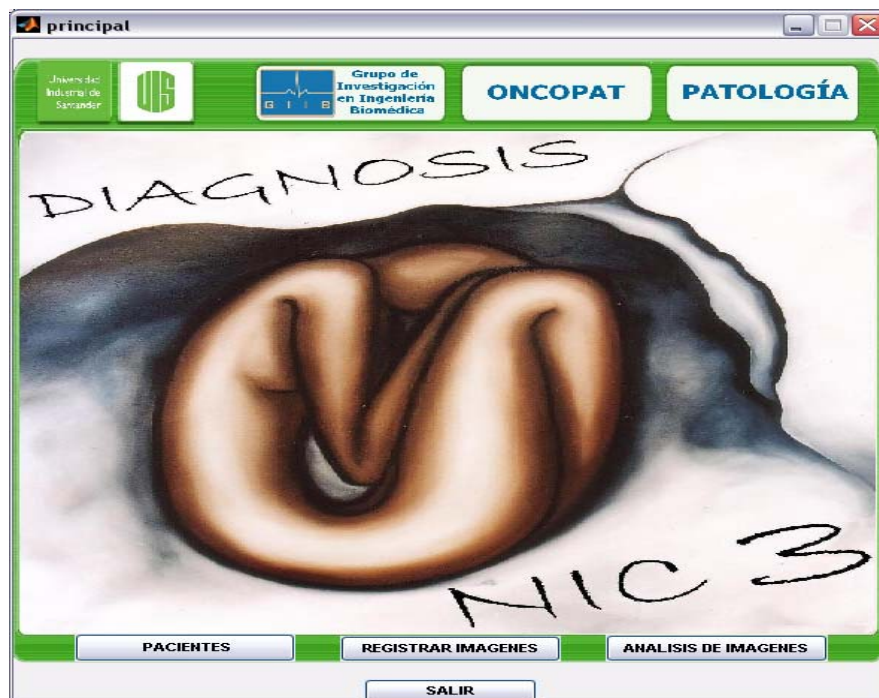
- **USUARIOS**

Para el ingreso al sistema se tiene una contraseña con 3 tipos de usuario el patólogo el cual sería el administrador del sistema y no tendrá ninguna restricción, los otros dos tipos serán profesores y estudiantes a los cuales se le limitara opciones de registrar pacientes, registrar imagen y ver la información personal del paciente, pues esta es neta y exclusivamente de uso del médico tratante.



- **MENÚ PRINCIPAL**

Luego de insertar la clave se abre la ventana de menú principal; esta tiene tres opciones. La primera es la de registro de pacientes, La segunda es el registro de imágenes de cada paciente y la tercera corresponde al procesamiento de las imágenes del paciente.



- **MENÚ PACIENTES**

En este encontramos la opción de registrar un paciente o de buscar un paciente por medio de la cédula o documento único de registro.



- **MENÚ REGISTRAR PACIENTES**

Por medio de este menú se registran la información personal del paciente y algunos datos de la historia clínica que pueden incidir en el resultado positivo para NICIII. En este registramos los pacientes y si se quiere se realiza la relación de la imagen o imágenes de este.

A screenshot of a software window titled 'registrar'. It contains several input fields for patient information: 'NOMBRE:', 'APELLIDOS:', 'DOCUMENTO:', 'DE', 'EDAD:', 'DIRECCION:', and 'TELEFONO:'. Below these is a section titled 'FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS' which is divided into two boxes. The left box is titled 'ETS' and contains checkboxes for 'Herpes', 'Sifilis', 'Clamidia', 'VPH', 'Gonorrea', 'Otras ETS', and 'Ninguna ETS'. The right box contains checkboxes for 'DIU', 'Postmenopausica', 'Radioterapias', and 'Abortos'. At the bottom of the window are four buttons: 'REGISTRAR PACIENTE', 'REGISTRAR NUEVO', 'REGISTRAR IMAGEN', and 'SALIR'.

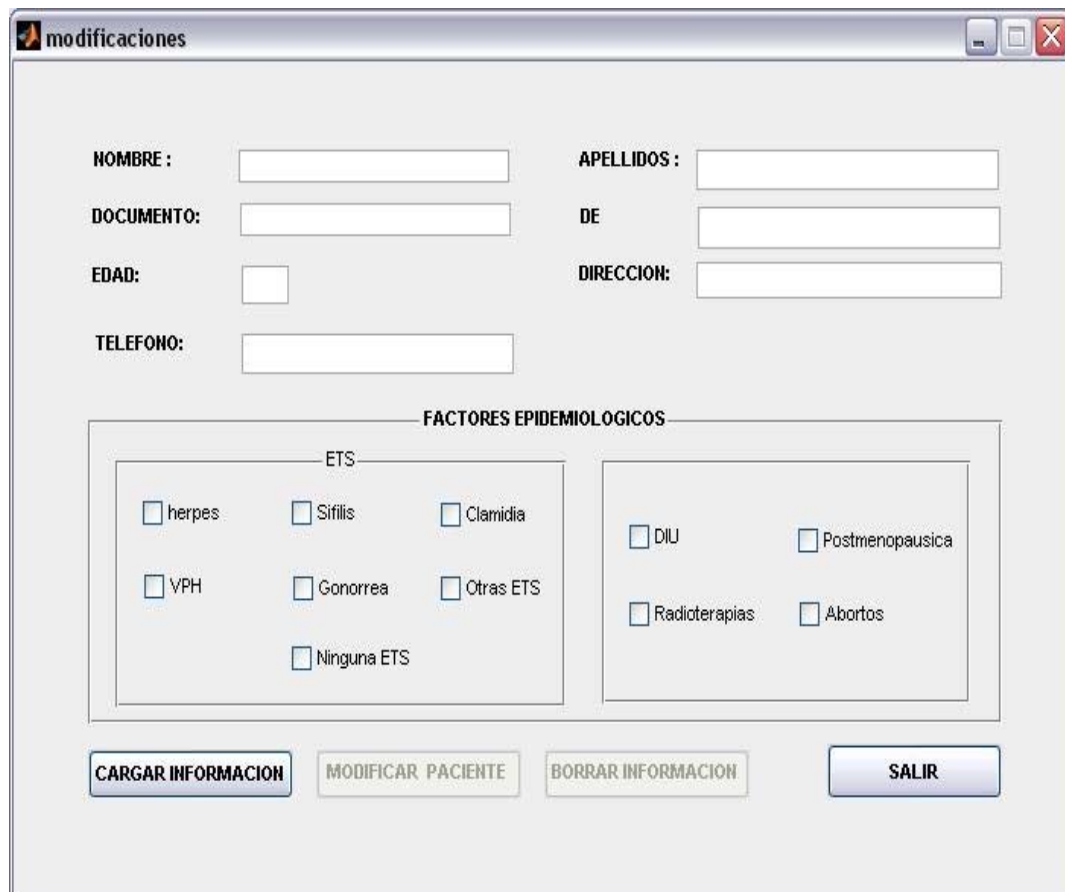
- **MENÚ MODIFICAR PACIENTE**

Si se clickea la opción buscar paciente esta nos muestra una ventana que pide la cedula del paciente.



The screenshot shows a window titled 'cedula' with a standard Windows-style title bar. Inside the window, the text 'CEDULA DEL PACIENTE' is followed by a text input field. Below this, there is a button labeled 'MODIFICAR INFORMACION'.

La opción modificar permite cargar la información del paciente y hacer la modificación o eliminación de este mismo.



The screenshot shows a window titled 'modificaciones' with a standard Windows-style title bar. The form is divided into several sections:

- Patient Information:** Fields for 'NOMBRE:', 'APELLIDOS:', 'DOCUMENTO:', 'DE', 'EDAD:', 'DIRECCION:', and 'TELEFONO:'.
- FACTORES EPIDEMIOLOGICOS:** A section containing two sub-sections:
 - ETS:** A group of checkboxes for 'herpes', 'Sifilis', 'Clamidia', 'VPH', 'Gonorrea', 'Otras ETS', and 'Ninguna ETS'.
 - Other Factors:** A group of checkboxes for 'DIU', 'Postmenopausica', 'Radioterapias', and 'Abortos'.
- Buttons:** At the bottom, there are four buttons: 'CARGAR INFORMACION', 'MODIFICAR PACIENTE', 'BORRAR INFORMACION', and 'SALIR'.

- **MENÚ REGISTRAR IMÁGENES**

Al ingreso de la opción Registro de Imágenes ya sea por el menú principal o en registro de pacientes, se debe digitar la cedula del paciente con el cual se relacionan las imágenes.



The screenshot shows a window titled 'cedula_imagenes'. Inside, there is a text input field with the label 'CEDULA DEL PACIENTE' to its left. Below the input field is a button with the text 'IMAGENES'.

Luego del ingreso de la cédula, se relacionan las imágenes ubicadas en su respectiva carpeta y el nombre de la imagen debe iniciar con el nombre del paciente. Cada imagen debe ser registrada con la fecha de la toma.

Se puede borrar la relación de la imagen con el paciente, esto no indica que la imagen sea borrada del disco, al igual, si se borra una imagen de disco que se encuentre relacionada con algún paciente esto generaría un error al leer esta imagen. El sistema no actualiza en tiempo real, así que se debe dar click el botón *actualizar*.



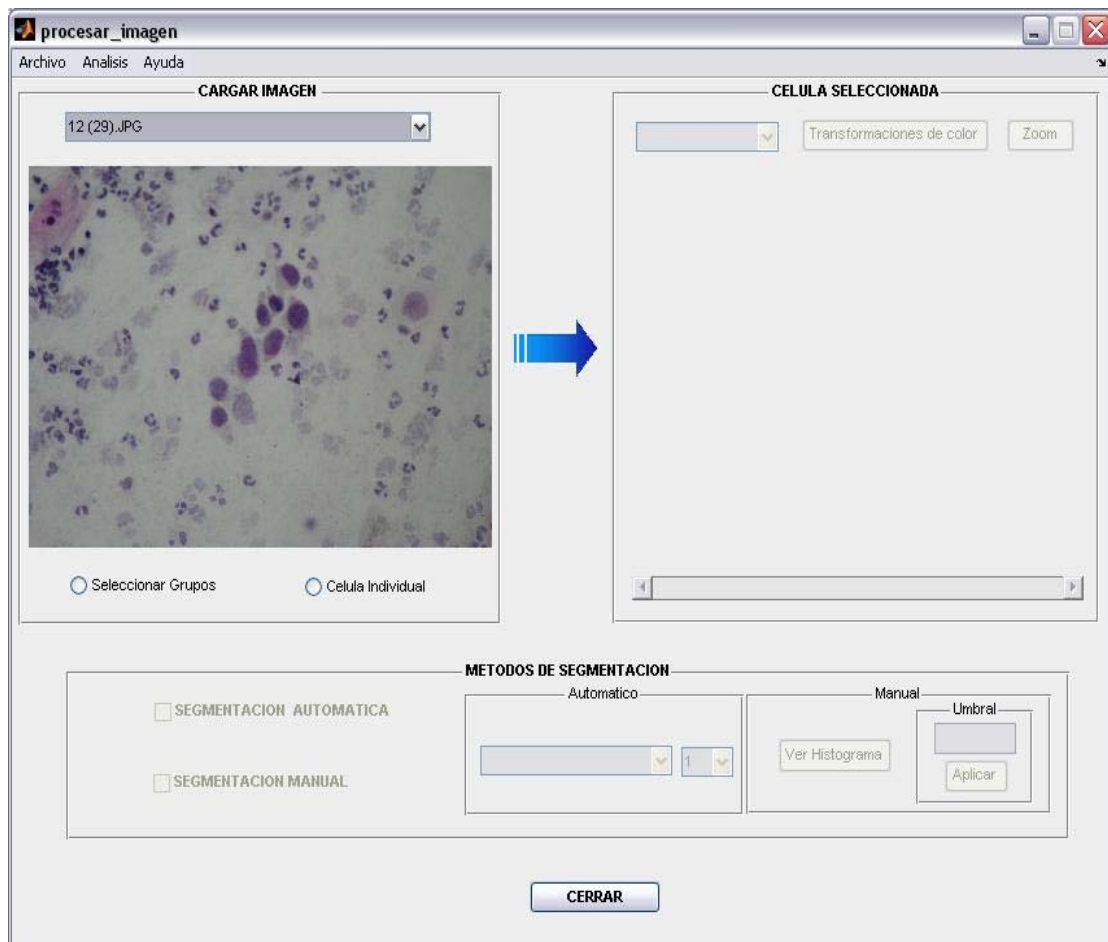
The screenshot shows a window titled 'imagenes'. It contains several input fields and buttons. At the top, there are three rows of labels and inputs: 'NOMBRE DEL PACIENTE:' with a text box containing 'IMAGENES_LIMITES', 'DOCUMENTO:' with a text box containing '12', and 'FECHA DE LA TOMA :'. The date section has three dropdown menus labeled 'Dia', 'Mes', and 'Año'. Below these are two main sections. The left section is titled 'Registrar Imagen' and contains an 'Imagen' label with a text box and an 'Examinar' button. Below this is a button labeled 'REGISTRAR IMAGEN'. The right section is titled 'Borrar Imagen' and contains a list box with a list of image files: '12 (10).JPG', '12 (11).JPG', '12 (12).JPG', '12 (13).JPG', '12 (14).JPG', '12 (15).JPG', '12 (16).JPG', '12 (17).JPG', and '12 (18).JPG'. Below the list box are two buttons: 'BORRAR SELECCION' and 'ACTUALIZAR LISTA'. At the bottom center of the window is a button labeled 'SALIR'.

- **MENÚ ANÁLISIS IMÁGENES**

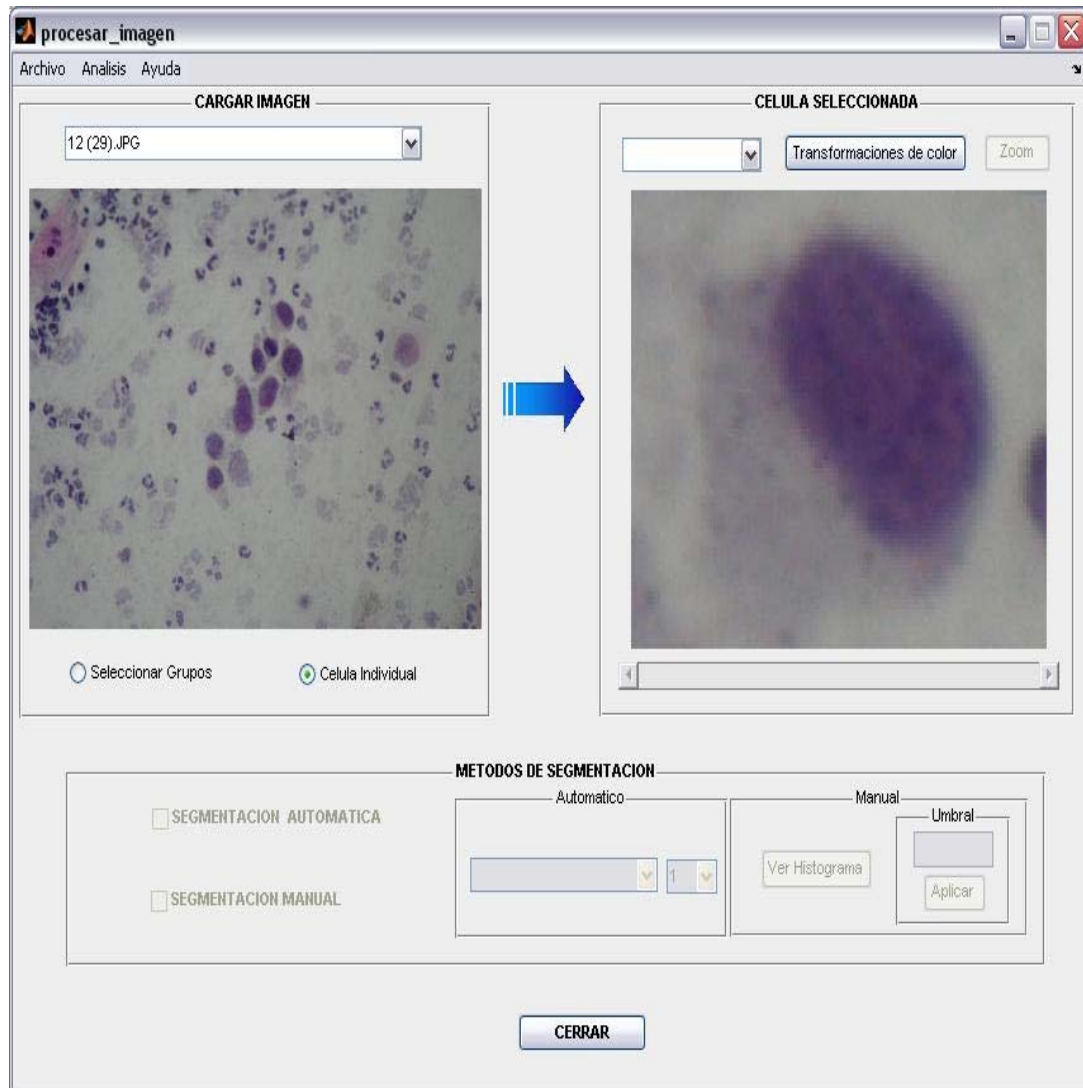
Para realizar el procesamiento digital a una imagen se debe digitar la cédula de la paciente.



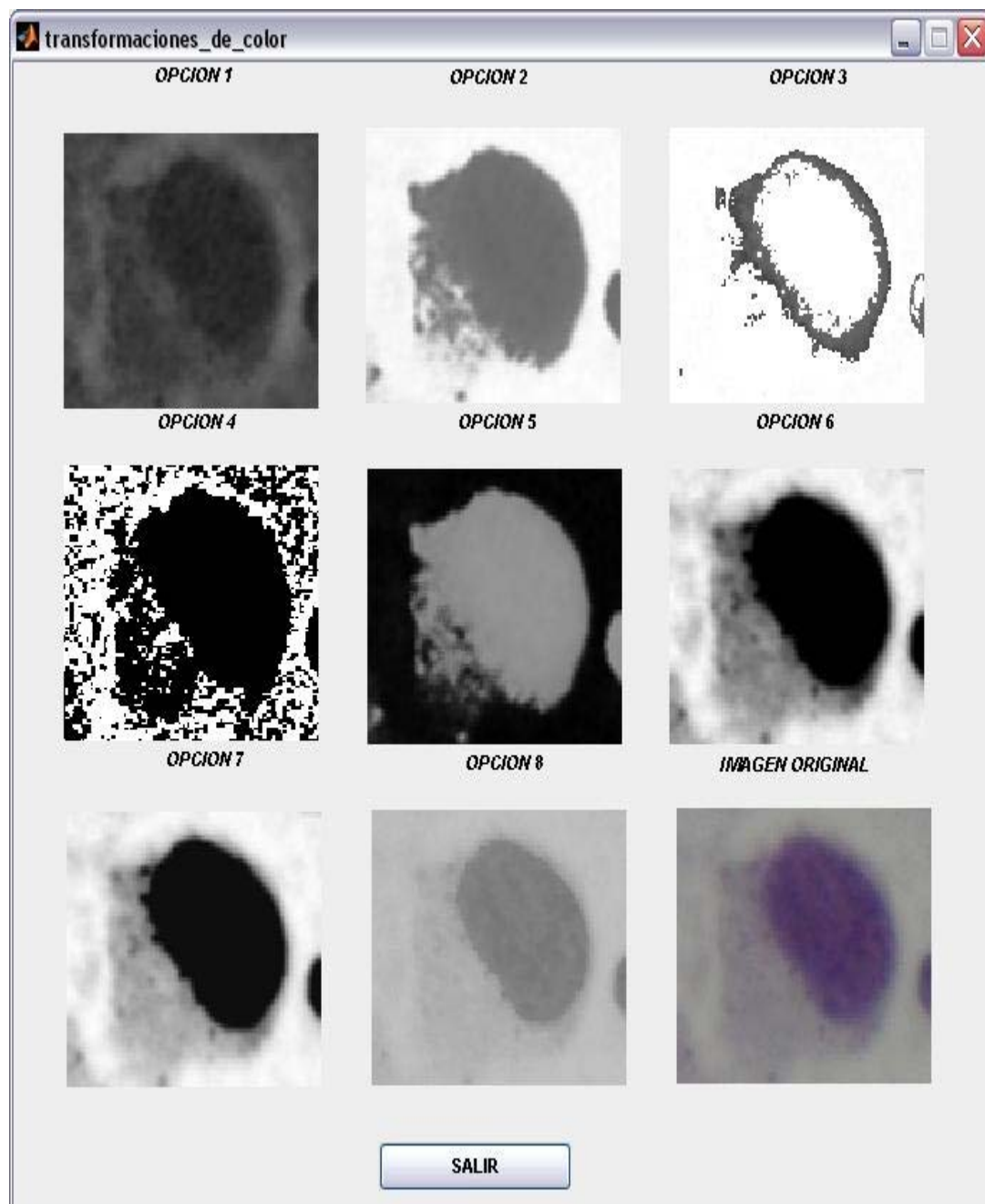
Cuando se pasa a realizar el análisis, la paciente debe tener relación de alguna imagen de lo contrario no se abrirá el menú de Análisis. En la ventana se despliega el nombre de las imágenes relacionadas y al dar click se visualizará la imagen escogida.



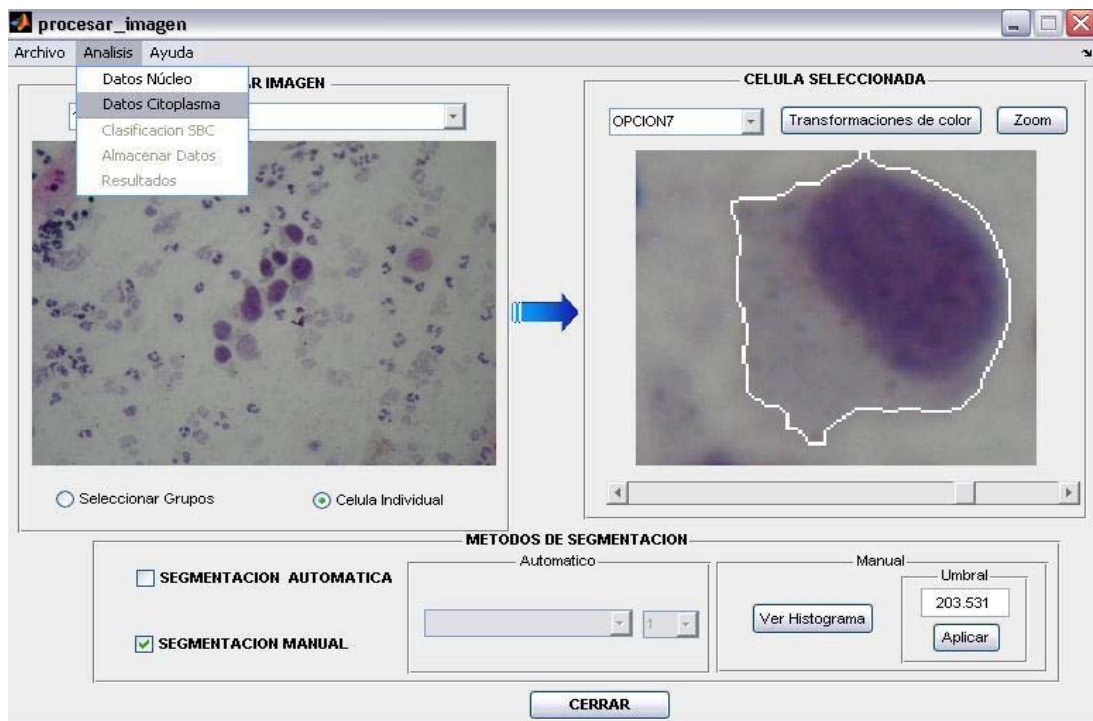
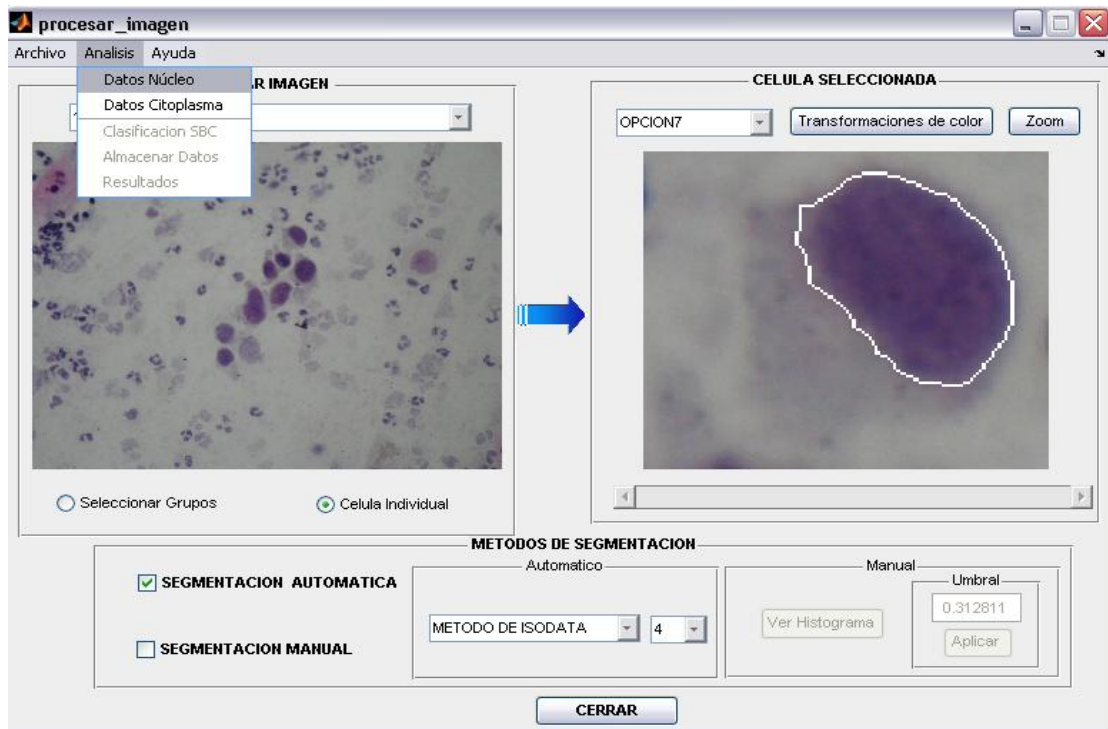
En la ventana se despliega el nombre de las imágenes relacionadas y al dar click se visualizará la imagen escogida. Para proceder al análisis se debe seleccionar la región de interés, esta comprende: *Célula Individual o Grupos*. Cuando se elige *Grupos*, es requisito del software realizar primero el procesamiento correspondiente al citoplasma, esto para conocer el área a la cual deben pertenecer los núcleos del grupo seleccionado, seguido a esto se puede hacer el procesamiento para los núcleos del grupo.



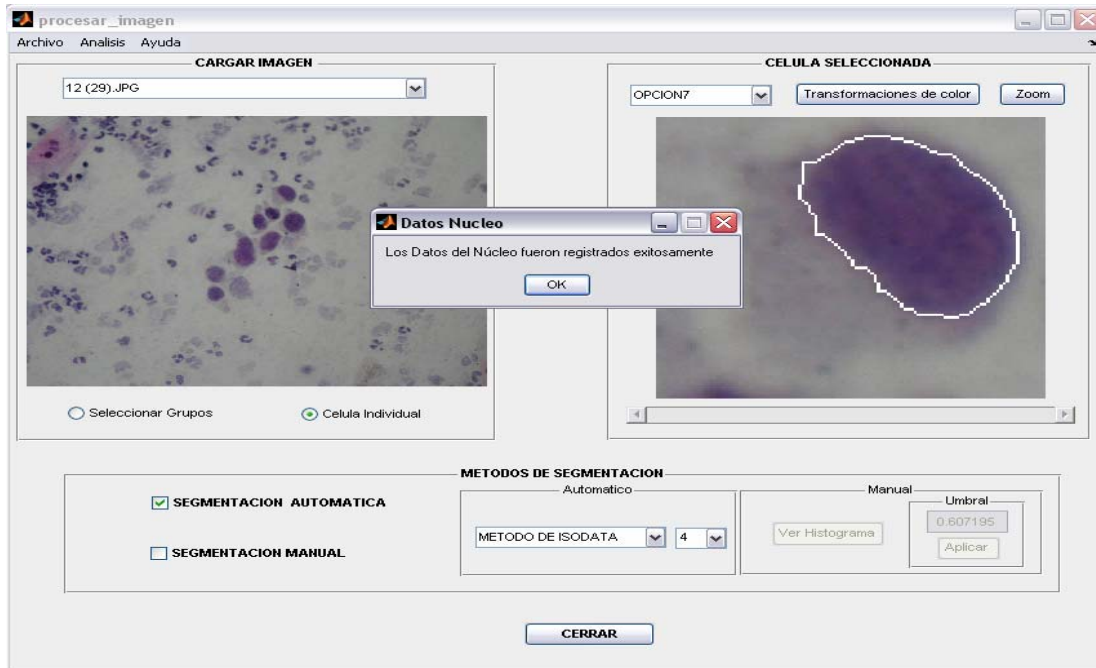
Se inicia la etapa de preprocesamiento de la Imagen seleccionada, decidiendo la transformada de color a usar para este tipo de imagen. Para observar las transformaciones que se obtienen en el sistema, se clickea en el botón *Transformaciones de Color* ubicado en la parte superior derecha de la ventana. Se visualizará una nueva ventana con todas las *opciones*, la cual permitirá al usuario elegir la más óptima para extraer los datos, que será aquella donde el núcleo o citoplasma, según lo que se vaya a analizar, resalte y sea la región más oscura.



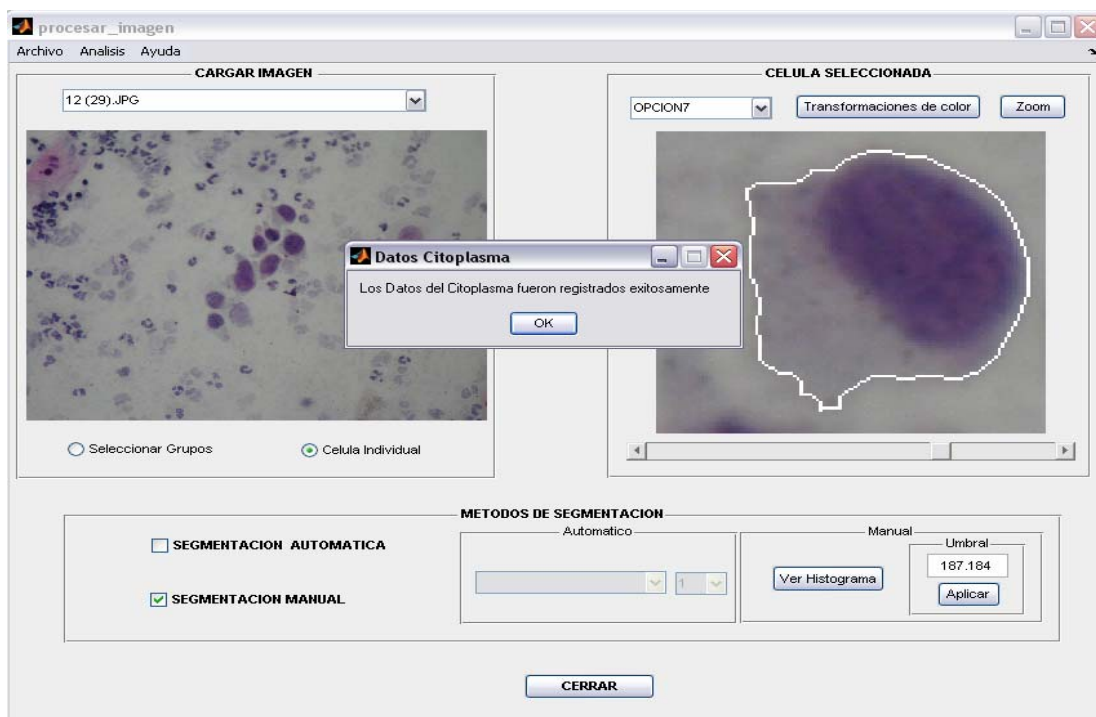
Para realizar el proceso de segmentación se tienen dos opciones: *Semi-Automática* y *Manual*. Para cualquier objeto de la imagen (núcleo y citoplasma), el software permite la opción de escoger el método de segmentación a usar.



Si el objeto seleccionado es el núcleo, el sistema habilitará la opción *Datos Núcleo* en la Barra de Menú *Análisis*; entonces se llevara a cabo la etapa de descripción y se obtienen la información requerida de los núcleos.

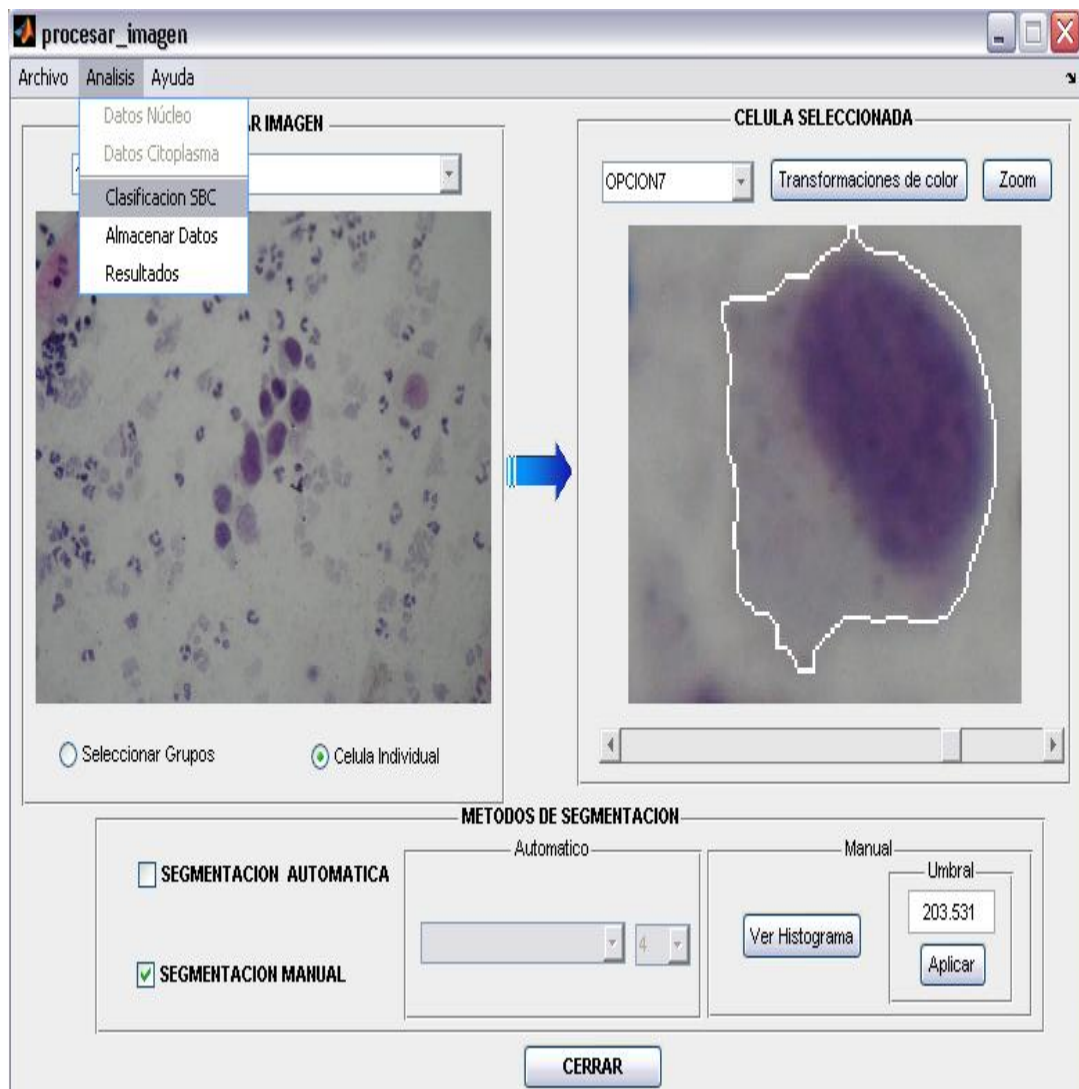


El mismo proceso para el citoplasma, el sistema habilitará la opción *Datos Citoplasma* en la Barra de Menú *Análisis*; entonces se llevara a cabo la etapa de descripción y se obtienen la información requerida del citoplasma.



Una vez registrados los datos de núcleo y citoplasma el sistema hace la extracción de rasgos respectiva, para proceder al siguiente paso en la etapa del Tratamiento Digital de Imágenes: Clasificación por medio del Sistema Basado en el Conocimiento. Para realizar esta operación se va a la opción *Clasificación SBC* en la barra de menú *Análisis*.

Luego de clasificar la imagen, según los datos del sistema basado en el conocimiento, se activa la opción: *Almacenar Datos*, la cual permite tener el registro de los datos de núcleo y citoplasma de esa imagen.



De la misma forma, los resultados obtenidos pueden visualizarse dando click en la opción *Resultados* de la barra de menú *Análisis*.

Los resultados obtenidos describen los rasgos característicos de Neoplasia Intraepitelial NIC III, sea para Células Individuales o Grupos y el porcentaje de características de NIC III que esta Célula o Grupo presenta.

The screenshot shows a software window titled "resultados" with a standard Windows-style title bar. Inside the window, there are several input fields for patient information:

- NOMBRE :** A text box containing "IMAGENES".
- APELLIDOS :** A text box containing "LIMITES".
- DOCUMENTO:** A text box containing "12".
- EDAD:** A text box containing "1".
- TELEFONO:** A text box containing "0".
- DIRECCION:** A text box containing "PATOLOGIA".

Below the input fields, there is a section titled "Los Factores Epidemiológicos presentados por la paciente son:" followed by a scrollable text area containing the following text:

Presenta DIU
Le han realizado Radioterapias
No presenta ninguna Enfermedad de Transmisión Sexual

Below this, there is another section titled "Porcentajes de Criterios Característicos de NIC III:" followed by a scrollable text area containing the following text:

La célula cumple con los rangos de Relación Núcleo/Citoplasma para NIC III
El núcleo cumple con los rangos de Gruposidad para NIC III
El núcleo cumple con los rangos de Hiperchromatismo para NIC III
El núcleo cumple con los rangos de Alteración de Contorno para NIC III

El núcleo cumple con los rangos de Circularidad para NIC III

Below the scrollable text area, there is a section titled "Resultado de NIC III:" followed by a blue rectangular box containing the text:

La célula analizada es el 100% NIC III

At the bottom center of the window, there is a button labeled "SALIR".

ANEXO B. REQUERIMIENTOS DEL SISTEMA

Requerimientos de Hardware:

- Procesador : 2.4 GHz en adelante.
- Memoria RAM: 256MB.
- Disco Duro: 80GB.
- Unidad Cd-Rom.

Requerimientos de Software:

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