



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

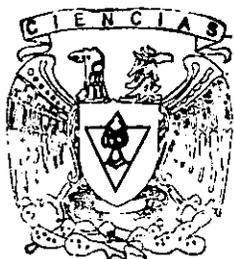
APLICACIONES DEL PROCESAMIENTO
DIGITAL DE IMAGEN EN LA BIOLOGIA.

T E S I S

Que para obtener el título de
BIOLOGO

P r e s e n t a

ENRIQUE SALAZAR LEYVA



FACULTAD DE CIENCIAS
UNAM

México, D. F.

Director de Tesis:

DRA. MARIA GARZA VIGIL

2000



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

MAT. MARGARITA ELVIRA CHÁVEZ CANO
Jefa de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:

"APLICACIONES DEL PROCESAMIENTO DIGITAL DE IMAGEN EN LA BIOLOGIA"

realizado por Enrique Salazar Leyva

con número de cuenta 8122117-8 , pasante de la carrera de Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis
Propietario

Dra. María Garza Vigil

Propietario

Dra. Patricia Rivas Manzano

Propietario

M. en C. Gerardo Rivas Lechuga

Suplente

Dr. Noé Rosas Espinoza

Suplente

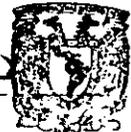
M. en C. Guillermo Gómez Alcaraz

FACULTAD DE CIENCIAS
U N A M.

Consejo Departamental de

Edna Suárez Díaz

Dra. Edna Suárez Díaz



DEPARTAMENTO
DE BIOLOGIA

APLICACIONES DEL PROCESAMIENTO DIGITAL DE IMAGEN EN LA BIOLOGIA

INDICE:

1. RESUMEN
2. CONCEPTOS BASICOS DE IMAGEN DIGITAL
 - 2.1. RELACION ESCENA-IMAGEN
 - 2.2. LA IMAGEN DIGITAL
3. SISTEMAS DE PROCESAMIENTO DIGITAL DE IMAGEN
 - 3.1. CAPTURA DE IMAGENES
 - 3.2. PROCESADORES
 - 3.3. SISTEMAS DE DESPLIEGUE
4. PRINCIPIOS DEL PROCESAMIENTO DIGITAL DE IMAGEN
 - 4.1. GENERALIDADES
 - 4.1.1. IMAGEN DIGITAL
 - 4.2. DOMINIO ESPACIAL
 - 4.3. DOMINIO DE FRECUENCIAS
 - 4.4. DOMINIO TEMPORAL
5. TECNICAS BASICAS DE PROCESAMIENTO DIGITAL DE IMAGEN
 - 5.1. MEJORAMIENTO
 - 5.1.1. OPERADORES PUNTUALES
 - 5.1.2. OPERADORES ESPACIALES
 - 5.1.2.1.FILTROS SUAIVZANTES
 - 5.1.2.1.1.FILTRO DE MEDIA
 - 5.1.2.1.2.FILTRO DE MEDIANA
 - 5.1.2.2.FILTROS REALZANTES
 - 5.1.2.2.1.FILTRO DIRECCIONAL
 - 5.1.2.2.2.FILTRO DIFERENCIAL
 - 5.1.3. COLOR
 - 5.2. IDENTIFICACION Y CUANTIFICACION
 - 5.2.1. SEGMENTACION
 - 5.3. SINTESIS (GENERACION DE IMAGENES)
6. LA IMAGEN EN LA BIOLOGIA
 - 6.1. TIPOS DE IMAGEN
 - 6.1.1. MICROSCOPIA FOTONICA

- 6.1.2. MICROSCOPIA ELECTRONICA
- 6.1.3. RAYOS X
- 6.1.4. ANGIOGRAFIA DIGITAL
- 6.1.5. TOMOGRAFIA AXIAL COMPUTADA
- 6.1.6. RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR
- 6.2. ANALISIS ACTUAL DE LA IMAGEN EN LA BIOLOGIA
- 7. UN EJEMPLO DE APLICACION
- 8. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES
- 9. BIBLIOGRAFIA
- 10. INDICE DE IMÁGENES

1 RESUMEN.

El reciente desarrollo de los sistemas de cómputo con capacidades gráficas y de proceso de gran velocidad y eficiencia, trajo consigo el surgimiento de nuevas técnicas y métodos en el análisis de la información, de manera particular en el análisis y síntesis de la información visual.

El manejo de la información visual (imágenes) por métodos digitales o automatizados (con computadora) permitió el surgimiento de una nueva disciplina: el Procesamiento Digital de Imágenes (PDI). En el PDI se conjuntan en su parte formal la matemática y la física y en sus aplicaciones toda una gama de disciplinas como geología, astronomía, geografía, química, meteorología y desde luego la biología y la biomedicina.

El presente trabajo pretende aplicar las técnicas del PDI en las imágenes generadas por algunas de las especialidades que conforman la biología (microscopía fotónica, microscopía electrónica, resonancia magnética nuclear, tomografía computada, radiología, etc.). Lo anterior permitirá además de la apreciación cuantitativa de la imagen, proporcionar al experto una herramienta para el mejor desempeño, tanto en la evaluación subjetiva de la imagen, como en las áreas de investigación básica y aplicada.

Para lograr lo antes mencionado, se utilizarán diversas rutinas de procesamiento de imagen implementadas en una microcomputadora personal, lo cual permitirá la elaboración de ejemplos demostrativos del procesamiento de imagen aplicado a la biología.

2 CONCEPTOS BÁSICOS DE IMAGEN DIGITAL.

La posibilidad de manipular la información por métodos automatizados abrió una gran oportunidad de desarrollo en las ciencias, sin embargo la posibilidad de manipular la información de tipo visual, hasta hace poco se encontraba limitada por la capacidad de procesamiento y tecnologías de visualización de resultados (gráficas e imágenes) en los sistemas de análisis automatizados (Billingsley, F. C., 1972; Castleman, K. R., 1979). Es de particular importancia el análisis de ésta, ya que la principal fuente de información en los humanos es el sistema visual, debido a que mediante él captamos casi el 90 % de las sensaciones que percibimos del medio ambiente, en particular, mediante el sistema visual captamos una parte del espectro electromagnético; el visible (Mckinlay, A. F., 1985) (Figura 1).

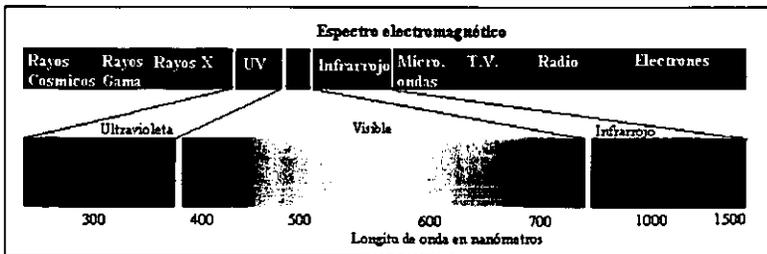


Figura 1. Espectro electromagnético.

2. 1 RELACIÓN ESCENA-IMAGEN.

Podemos definir el paisaje como los objetos presentes en un ambiente físico tridimensional, con un arreglo geométrico determinado y generalmente gobernado por las leyes de la física (Pratt, W. K., 1978; Schalkoff, R. J., 1989). La escena que percibimos visualmente es una representación no física del paisaje, es decir, es una representación subjetivo-virtual de los objetos del paisaje (Lira, J., 1987), a su vez ésta puede ser representada por una función continua de dos variables $f(a,b)$, cuyos valores de las variables (a,b) corresponden a la cantidad de radiación proveniente del paisaje (Figura 2) y el valor de la función f representa la intensidad de radiación en (a,b) .

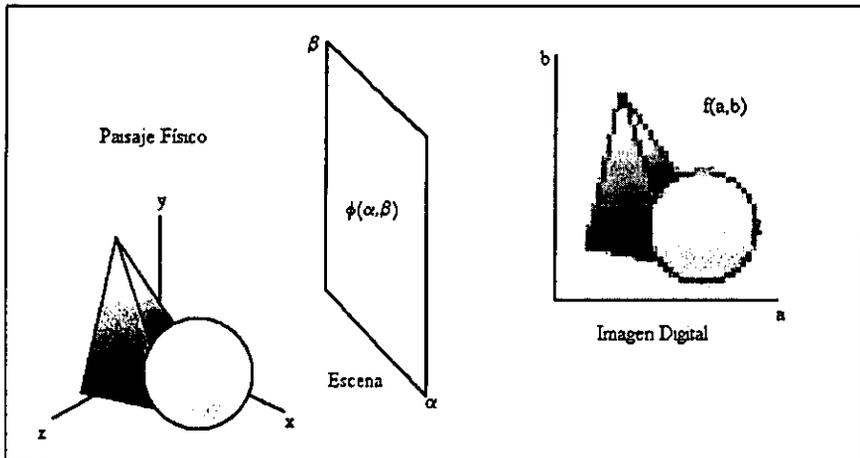


Figura 2. La escena es una representación subjetivo-virtual de los objetos en el paisaje.

Aunque la visualización de la escena en el caso humano se hace mediante la percepción del espectro electromagnético correspondiente a la luz visible (390-780 nm aproximadamente), es posible la formación de imágenes con diversos tipos de radiación, desde las partículas en microscopía electrónica, rayos X para la formación de radiografías, la luz ultravioleta (LUV) en microscopía de LUV y el radar. Asimismo es

posible generar imágenes por métodos indirectos (síntesis) como la actividad eléctrica o fisiológica, y la simulación por modelos matemáticos, por ejemplo fractales (Preston, K., 1988). (Figura. 3).

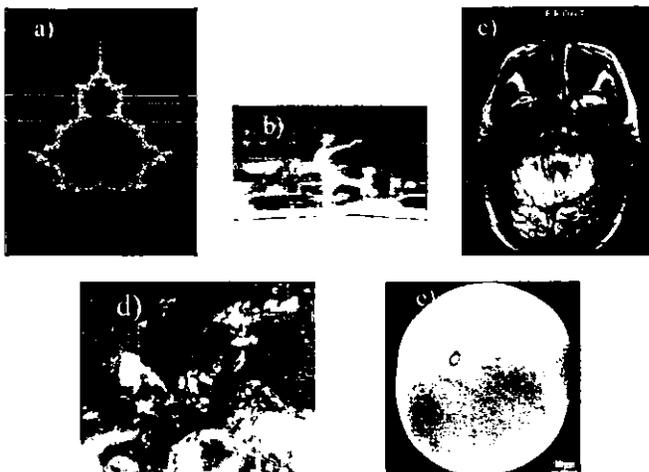


Figura 3. Imágenes generadas con diversas fuentes: a) imagen sintética (conjunto de Mandelbrot), b) Televisión, c) Resonancia Magnética Nuclear, d) Satélite, e) Microscopía electrónica.

2.2 LA IMAGEN DIGITAL.

Con el fin de describir el proceso de conversión de una escena virtualmente continua tomaremos como ejemplo una fotografía convencional. Esta a primera vista parece ser continua, es decir, no se aprecian las partículas de sales de plata con que realmente está registrada. Si sobreponemos a esta fotografía una "rejilla" lo que estamos haciendo es la discretización del espacio de la imagen. Ahora asignamos un número a cada cuadro de nuestra "rejilla" de acuerdo al promedio de radiación que esté contenido en cada elemento de ésta. Finalmente lo que obtendremos será una representación numérica de una *imagen continua* o escena, es a ésta que en adelante llamaremos Imagen Digital (ID). Es conveniente precisar que los elementos de la matriz o "rejilla" quedan asociados numéricamente con el promedio de la intensidad de radiación en el área de cada unidad en la matriz de superposición, conocido también como campo instantáneo de visión (CIV), constituido éste por las dimensiones físicas de cada elemento de la matriz sobre la escena (Figura 4).

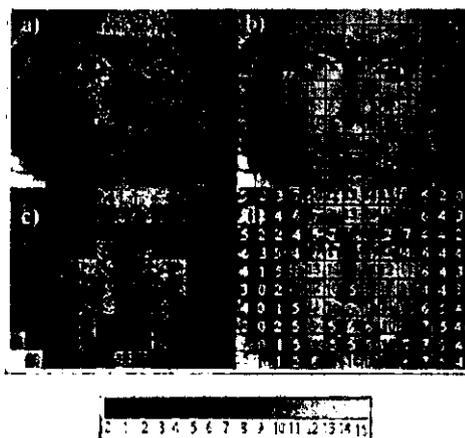


Figura 4. Proceso de formación de una imagen digital a partir de una escena. a) escena, b) discretización del espacio, c) imagen digital, d) matriz numérica de la imagen digital y e) rango dinámico (Lira, R., 1987).

De este modo obtenemos la ID, que podemos representar como una función discreta de dos variables $f(x,y)$, cuyo valor nos indica la radiación promedio en el área asociada a cada elemento de imagen (EI o "pixel" del inglés *picture element*) el cual se puede expresar en voltios, lumen, etc. y constituye la representación numérica o lógica de cada CIV; cabe hacer notar que a cada CIV le corresponde un pixel y viceversa.

El intervalo de los valores que toma f es comúnmente llamado Rango Dinámico, por extensión, si f toma sólo dos valores, la imagen resultante es una imagen binaria. Cada uno de los valores del rango dinámico está asociado a un conjunto de valores (x,y) , los cuales representan a uno o varios pixeles y que además provienen de uno o varios CIV. Se puede decir que las variables x,y son coordenadas espaciales asociadas con la posición del censor. Por otro lado, el rango dinámico se puede expresar como un conjunto de colores mediante la asignación de una escala arbitraria predeterminada de colores o tonos de gris (Lira, J. 1987).

Existen tres características importantes a considerar en las imágenes digitales: la resolución espacial, la cuantización y la resolución espectral, todas de gran importancia para la apreciación subjetiva y para la valoración cuantitativa.

La resolución espacial de la imagen se refiere al tamaño del detalle mínimo con que se representa una ID y éste está determinado por el tamaño o magnitud de la matriz de superposición, es decir con cuantas unidades de imagen se representará la escena. Esto quiere decir que en teoría una imagen digital óptima en resolución espacial es aquella que tenga infinito número de unidades de imagen, o sea una matriz infinita de superposición, lo cual desde luego no ocurre, así que la resolución espacial de una imagen comúnmente conocida como número de renglones por número de columnas está dada en parte por los objetivos de interés dentro de la imagen y por la disponibilidad de memoria en los sistemas de análisis de imagen.

Otro aspecto relevante en la resolución espacial de la imagen es la definición de la magnitud del Campo Instantáneo de Visión (CIV). Es importante notar que las magnitudes (alto y ancho) de cada CIV están

predeterminadas por la magnitud del detalle mínimo a identificar en la ID. Se puede decir intuitivamente que las dimensiones de cada CIV están en relación con la mitad de la magnitud del detalle mínimo a registrar en una imagen, por lo tanto, el tamaño del área que cubren los elementos de imagen en la escena (CIV) también va asociado a la calidad de resolución espacial de la imagen digital. Con ello se deduce que: a) a mayor tamaño de la matriz de superposición y b) a menor tamaño en las dimensiones del CIV en la escena, se obtendrá una representación más detallada de la misma en la imagen; es importante notar que la resolución espacial depende además de los objetivos específicos que se persigan, por ejemplo el tamaño de cada CIV en una imagen de satélite es del orden de kilómetros (14 x 14 Km, satélite GOES6) en contraposición a los digitalizadores acoplados a un microscopio electrónico en los cuales las dimensiones de cada CIV son del orden de decenas de nanómetros. Por otro lado, la cantidad de memoria en los sistemas de cómputo para almacenar las imágenes se incrementa de modo exponencial a medida que aumentamos la cantidad de memoria para representar cada pixel y el tamaño de la matriz. (Figura 5)

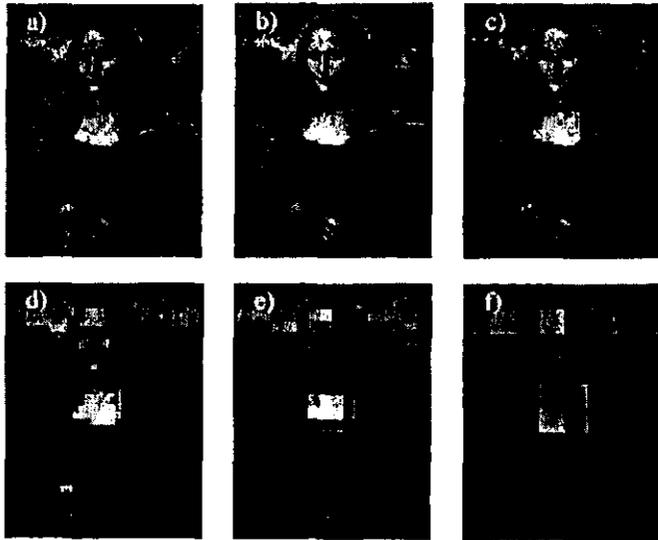


Figura 5. Resolución espacial a) 256 x 328, b) 128 x 164, c) 64 x 82, d) 32 x 41, e) 16 x 20, f) 8 x 10.

El siguiente paso después de la discretización del espacio es la cuantización. Esta consiste en la asignación de los promedios de intensidad de cada CIV o los valores de los elementos de imagen a un número finito de niveles de gris o tonos de un color determinado. Este proceso involucra dos conceptos importantes. El primero de éstos se refiere a que la cuantización debe proveer una ilusión de continuidad visual, es decir, que se tenga la idea de una imagen digital con características visuales que resulten en la comprensión de los objetos en la imagen. Por otro lado, es importante considerar el número de los niveles de radiación (tonos o niveles de gris) con los que la imagen será registrada, ya que dependiendo del número de ellos se tendrá una buena o mala calidad de la representación. Al rango de los niveles de radiación que contiene una imagen digital se le conoce también como rango dinámico de la imagen (Gonzalez R. 1992).

Es importante hacer notar que el número de niveles de radiación a utilizar para representar una escena, es subjetivo y depende de los objetivos específicos del estudio, por ejemplo se puede obtener información de la imagen de un cariotipo humano representada con sólo dos niveles de radiación, y sin embargo para el análisis de delimitación precisa de un tumor se requerirá de un elevado número de niveles de gris para identificar cambios pequeños en la intensidad (Figura 6), auxiliados desde luego con técnicas de procesamiento de imagen, ya que el ojo humano sólo es capaz de distinguir alrededor de 16 tonos de gris, esto delimitado por los aspectos fisiológicos de la retina.

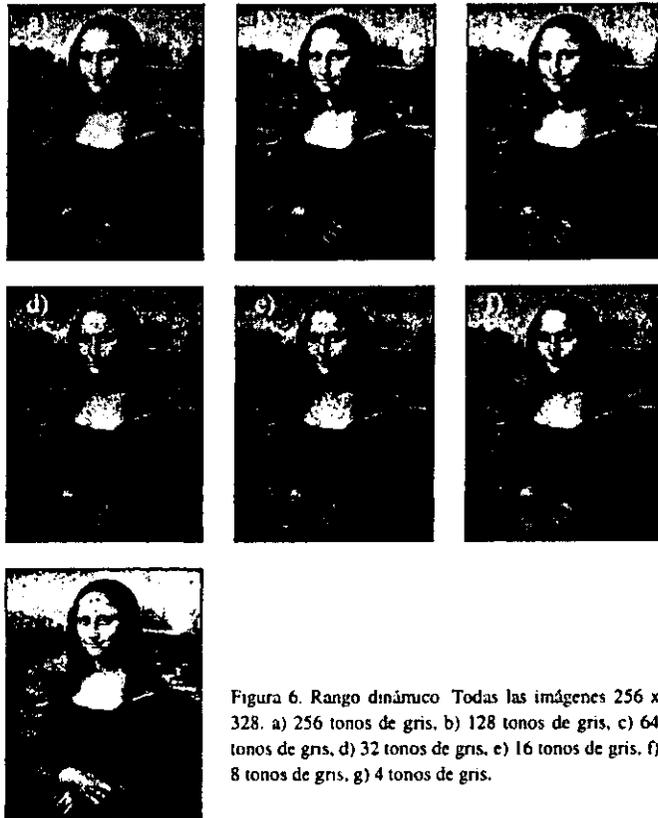


Figura 6. Rango dinámico Todas las imágenes 256 x 328. a) 256 tonos de gris, b) 128 tonos de gris, c) 64 tonos de grns, d) 32 tonos de gris, e) 16 tonos de gris, f) 8 tonos de gris, g) 4 tonos de gris.

También es importante hacer notar que la cantidad de memoria en bits requerida para almacenar una imagen digital está en función del tamaño de la matriz y del número de niveles de gris con que será representada (Apéndice I), sin embargo, empíricamente es fácil notar que es más importante la resolución espacial que la magnitud del rango dinámico, ya que es preferible contar con más información contenida en los CIV que con el número de colores con que la ID va a ser representada (Figura 7), aunque a mayor tamaño de la matriz y mayor número en los niveles de gris se obtendrá una mejor aproximación en el proceso de digitalización y con esto una mejor representación de la escena.

Teóricamente con un tamaño infinito en la matriz de superposición y un rango dinámico infinito tendríamos una representación ideal de nuestra escena en una ID.

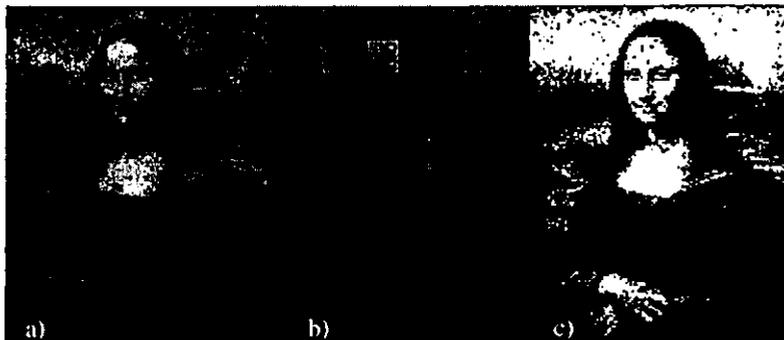


Figura 7. a) imagen original, 256 x 328 x 256, b) 8 x 10 x 256, c) 256 x 328 x 4.

La resolución espectral se refiere al rango o ancho de banda del espectro electromagnético que el sensor es capaz de registrar (Hecht, E., 1974), así es posible obtener imágenes digitales con diferentes resoluciones espectrales dependiendo de las características del sensor. Es posible generar imágenes multispectrales en las cuales se ha capturado una misma escena en un instante dado pero usando diversas regiones del espectro electromagnético. Los ejemplos típicos de estas imágenes son las obtenidas por los satélites de percepción remota, los cuales están equipados generalmente con sensores para ciertas bandas del espectro electromagnético por ejemplo las bandas azul, verde, rojo e infrarrojo (Struve, W. S., 1989; Willis, H. A., 1987) (Tabla 1, Figura 8).

Frecuencia	Longitud	Tipo de radiación
$10^0 - 10^9$	$\infty - 3$ cm	Radio
$10^{10} - 10^{11}$	3 cm - 0.1 mm	Microondas
$10^{12} - 10^{14}$	0.1 mm - 1mm	Infrarrojo
10^{15}	1mm - 300 nm	Luz visible
$10^{16} - 10^{17}$	300 nm - 10 nm	Ultravioleta
$10^{18} - 10^{19}$	10 nm - 1 pm	Rayos x
10^{20}	< 1 pm	Rayos γ

Tabla 1. Espectro electromagnético.

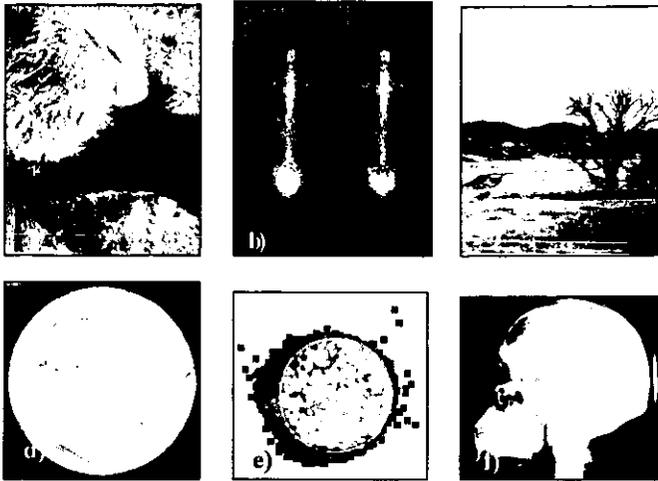


Figura 8. Imágenes en diferentes regiones del espectro electromagnético. a) satélite 10^8 Hz (radar); b) rayos γ 10^{20} Hz, c) visible 10^{15} Hz, d) satélite (infrarrojo) 10^{12} Hz, e) ultravioleta 10^{16} Hz, f) rayos X 10^{18} Hz.

El ruido presente en una ID está caracterizado como información que no presenta importancia para el procesamiento de una imagen y este se puede presentar por diversas causas, como una mala calidad en la digitalización de la escena, producida por señales eléctricas de interferencia o el difícil acceso visual a la escena. Tal es el caso de las radiografías, en las cuales los tejidos blandos (el ruido) se interponen entre los huesos (el objeto de estudio) y el sensor. De cualquier modo el ruido es información no útil o no deseada que quedó registrada junto con nuestra imagen, por esto algunas técnicas de procesamiento de imagen están encaminadas a eliminar el ruido de la misma, sobre todo en aquellas que por su difícil acceso (angiografía digital) o su elevado costo (imágenes de Saturno) son únicas.

3 SISTEMAS DE PROCESAMIENTO DIGITAL DE IMAGEN.

Un sistema de procesamiento digital de imágenes con propósitos generales debe contener los siguientes elementos: captura de imágenes, una unidad de procesamiento alimentada con un banco de programas para el análisis de la imagen, un sistema de almacenamiento secundario y un sistema de despliegue (Goochee, C., 1983) (Figura 9).

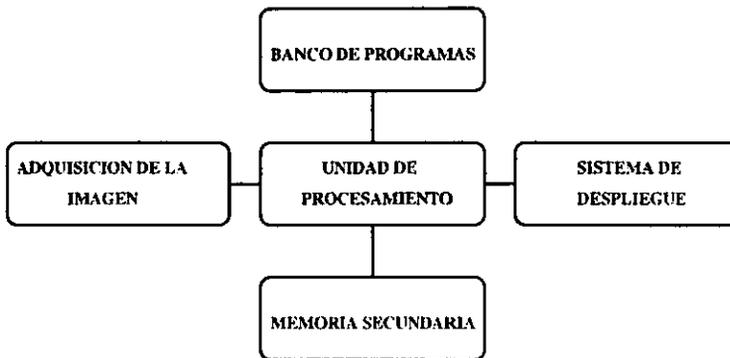


Figura 9. Sistema de procesamiento digital de imágenes.

3.1 CAPTURA DE IMÁGENES.

Un gran avance evolutivo de los seres vivos fue el desarrollo de órganos especializados para la visión, así como de zonas nerviosas especializadas para la integración de la información captada por estos órganos, proveniente de la radiación electromagnética del ambiente, comúnmente en el espectro visible. Este hecho permite contemplar con

"ojos propios" el entorno, es decir, permite a la materia física observarse a sí misma.

La captura de imágenes en el caso de los seres vivos, incluye un sistema de formación de imágenes compuesto por "lentillas" de tejido translúcido, un sistema censor compuesto por células con pigmentos fotosensibles que son capaces de detectar la luz o los cambios de intensidad luminosa del medio ambiente y por un sistema de células nerviosas capaz de sintetizar, analizar e integrar la información visual. En el caso del ojo de los vertebrados la retina es el órgano sensitivo, está compuesta por dos tipos celulares sensibles a la luz: bastones y conos. Los bastones son muy sensibles a cantidades pequeñas de luz y no son capaces de percibir el color. Los conos por otro lado están presentes en menor número y son los encargados de percibir los cambios en el color (Figura 10).

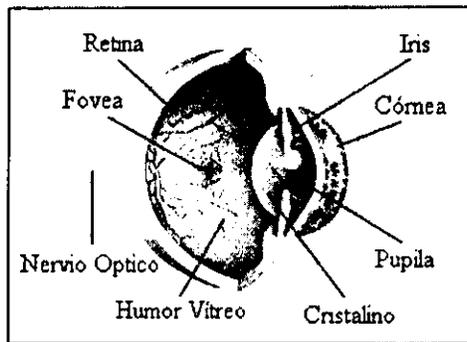


Figura 10. Sistema visual biológico.

Analógicamente podemos construir un sistema artificial de captura de imágenes, lo cual requiere de diversos subsistemas, entre los cuales podemos mencionar la fuente de iluminación o radiación, un conjunto de sensores, un convertidor analógico-digital (digitalizador) y un sistema de almacenamiento secundario (Figura 11).

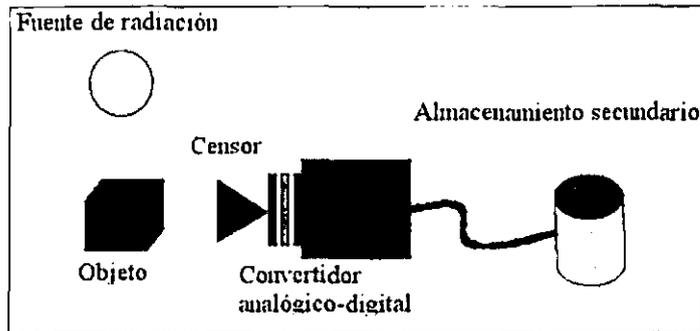


Figura 11. Sistema de captura de imágenes digital.

Las diversas fuentes de radiación que comúnmente son empleadas, varían desde la simple radiación solar para la percepción remota en el espectro visible, pasando por rayos cósmicos, rayos X, partículas de microscopía electrónica y señales de radiofrecuencia para las imágenes de resonancia magnética nuclear (Podo, F., 1988). La calidad o cantidad de radiación proveniente de una fuente es de vital importancia para el proceso de captura de una imagen digital, ya que es precisamente esta radiación o el reflejo de ésta lo que será captado por los sensores (Figura 10). La calidad cualitativa y cuantitativa de la fuente de radiación en algunos sistemas de captura de imágenes está modulada por dispositivos electromagnéticos u ópticos acoplados a los sensores y tienen como función modular (enfocar) o filtrar determinado componente de la banda electromagnética que se esté registrando.

Los sensores son dispositivos comúnmente de tipo electrónico que se encargan de registrar la radiación de ondas o partículas provenientes de la escena. Los sistemas de adquisición de la imagen pueden clasificarse dependiendo del tipo de sensor que utilizan. De acuerdo a esto los sensores pueden ser: Sensores pasivos o sensores activos. Los sensores pasivos son aquellos en los que la fuente de iluminación es independiente del sistema, y por tanto no se tiene control sobre ésta.

Ejemplos de sensores pasivos son los sensores de percepción remota, cámaras de video, etc. En éstos la fuente de radiación no pertenece al sistema de generación de la imagen por lo que es posible que la

información que se está registrando sea de mala calidad, y generalmente se utilizan dispositivos de tipo óptico o mecánico para lograr la captura de la imagen utilizando de manera óptima la radiación proveniente de la escena.

Los sensores activos se caracterizan por contar con una fuente de radiación controlada, por ejemplo: la tomografía por emisión de positrones, la microscopía electrónica y fotónica, la resonancia magnética nuclear y la imagen de radar. En este caso la fuente de radiación pertenece al sistema de generación de imagen, por lo que se tiene control casi total sobre ésta. En todo caso se conoce con mayor precisión las características propias de la fuente de radiación o se tiene la información referente al tipo de error que esta fuente puede inducir en la imagen.

Es de hacer notar que la mayoría de los sensores traen acoplado un sistema para la formación de la imagen, por ejemplo, el barredor CCD (Dispositivo de Carga Acoplada) de una cámara de TV trae acoplado un sistema óptico y electrónico para la formación de la imagen que será registrada por el barredor. De esta manera aunque el sensor sea pasivo o activo comúnmente se utiliza un sistema óptico para modular la calidad de la información que está recibiendo el sensor.

El digitalizador es un dispositivo que convierte la escena continua en una imagen discreta, es decir, una representación numérica de la escena para finalmente producir la imagen digital. Existen diversos tipos de dispositivos que realizan esta función, tales como tarjetas digitalizadoras, microdensitómetros, cámaras de televisión digitales, rastreadores (*scanners*), lectores optoelectrónicos, etc., los cuales poseen ciertas ventajas y desventajas en cuanto a la calidad de generación de la ID (resolución espacial y espectral). Actualmente se cuenta con dispositivos digitalizadores (circuitos en tarjetas) para microcomputadoras personales con las que se obtienen resoluciones espaciales regularmente de 1024 columnas por 1024 renglones y cuantización del orden de 2^{32} hasta 2^{64} de magnitud en el rango dinámico.

Los sistemas de PDI de manera general no realizan procesamiento complejo de la imagen en tiempo real, dado que para esto se requiere una enorme velocidad de proceso. Existen sistemas dedicados exclusivamente al proceso de adquisición de imágenes para posteriormente ser analizadas

en otro sistema dedicado al análisis de datos e incluso ubicados en una localidad remota, de modo que es necesario contar con un sistema de almacenamiento a largo plazo para el almacenamiento de las imágenes capturadas, así como de los resultados de su análisis.

Existen diversos medios de almacenamiento secundario, pero los más comúnmente usados son los discos y eventualmente cintas magnéticas. Los primeros tienen la ventaja de tener un acceso relativamente más rápido a los datos almacenados, aunque requieren de mayor mantenimiento y son comparativamente de poca capacidad. Estos son ampliamente utilizados para almacenar los bancos de programas de aplicación de los sistemas de PDI, así como las imágenes en proceso, es decir, son empleados para el almacenamiento a corto plazo. Las cintas magnéticas tienen la ventaja de que pueden contener mucha más información que cualquier disco, son más baratas por unidad de información almacenada y requieren de menor mantenimiento, pero el acceso a la información resulta ser extremadamente lento por lo que su uso está dirigido al almacenamiento a largo plazo. Por otro lado, se cuenta con los sistemas de almacenamiento en disco optomagnético, éstos son de gran uso actualmente para el almacenamiento final de información la cual incluso es posible modificar y que ha tenido gran impacto para el almacenamiento de secuencias de imágenes en movimiento, dada la alta velocidad de recuperación de la información.

3.2 PROCESADORES.

Existen diversos sistemas para el procesamiento de imágenes, desde los microprocesadores dedicados exclusivamente al procesamiento interactivo de la imagen (que requiere poco tiempo) como es el caso de los equipos de resonancia magnética nuclear, hasta toda una compleja infraestructura para el procesamiento de imágenes provenientes de los

satélites de percepción remota o misiones espaciales, en las que el proceso de extracción de información tarda en algunos casos varios años. Sin embargo, el desarrollo reciente de las microcomputadoras personales en cuanto a velocidad de proceso con el desarrollo de nuevos y más veloces procesadores (Levin, C. 1995), (Pentium III, α XP, PowerPC, R10000, G6) y el mejoramiento en los sistemas de despliegue en monitores, permite la utilización de éstas para tareas específicas de procesamiento de imagen (como estaciones de trabajo), sobre todo en el campo de la investigación básica y aplicada (Corkidi, G. 1991).

3.3 SISTEMAS DE DESPLIEGUE.

Estos sistemas tienen la finalidad de mostrar una representación visual de la ID o bien de los resultados obtenidos al aplicar algunos procesos a la misma. Existen diversos sistemas de despliegue, entre los que se cuenta con los tubos de rayos catódicos (TRC) o monitores de TV, impresoras y placas fotográficas. Recientemente los sistemas de computo han tenido relevantes mejoras en cuanto a sus dispositivos de visualización, permitiendo el surgimiento de estaciones de trabajo dedicadas exclusivamente a la representación gráfica en las cuales es posible la visualización de imágenes y gráficas con un grado de sofisticación elevado (Reader, R. C., 1981).

El tubo de rayos catódicos, es un dispositivo que permite tener una imagen luminosa en una pantalla para su apreciación visual. Recientemente ha tenido gran desarrollo con los dispositivos tipo VGA ("*Video Graphics Array*"), Super VGA y otros dispositivos aceleradores gráficos, dedicados a la visualización, que incorporan procesadores y memoria a los dispositivos de despliegue. Estos están implementados para microcomputadoras personales y presentan alta resolución y bajo costo.

Existen dispositivos especializados para la visualización de imágenes con resoluciones muy altas, así como la posibilidad de obtener más de 16 millones de colores simultáneamente para la mejor visualización de una imagen. Es importante notar que estos dispositivos son la norma para los equipos básicos de cómputo. Este tipo de dispositivos tiene su más amplio desarrollo en las aplicaciones médicas en donde el especialista requiere observar con gran detalle las imágenes con interés clínico o diagnóstico.

Otro sistema de despliegue son las impresoras, dentro de las que podemos mencionar las impresoras de matriz de puntos, en las cuales la representación de la imagen es de baja calidad; existen impresoras de tipo térmico y de dispersión de tinta, sin embargo, las impresoras láser, dependiendo de sus características técnicas, ofrecen un mejor grado de reproducción que las anteriores. Actualmente se cuenta con la tecnología de impresoras de video, las cuales presentan una calidad muy superior a las anteriores aunque su costo es elevado.

Existe la posibilidad de obtener representaciones de las imágenes, así como de los resultados de su procesamiento mediante otros sistemas indirectos tales como: 1) placas fotográficas, las cuales se obtienen a partir de los monitores y 2) cintas de video, obtenidas a partir de la conversión a señal de video de una imagen digital.

4 PRINCIPIOS DEL PROCESAMIENTO DIGITAL DE IMAGEN.

4.1 GENERALIDADES.

Para hablar del procesamiento digital de imágenes es necesario tener en cuenta algunos conceptos de la relación existente entre la escena "natural" y su correspondiente digital. Asimismo es indispensable tener algunos de los fundamentos que nos permitan comprender todo el alcance que el empleo de este tipo de técnicas puede brindar al profesional dedicado a las ciencias naturales y en particular a la biología.

4.1.1 IMAGEN DIGITAL.

Teniendo en cuenta lo descrito en el capítulo 3.1, 3.2 y que la escena es una función bidimensional $f(a, b)$ continua, su correspondiente función digital $f(x, y)$ está representada aproximadamente de la siguiente manera:

$$f(a,b) \approx \left\{ \begin{array}{cccc} f(0,0), & f(1,0), & \dots & f(m-1,0) \\ f(0,1), & f(1,1), & \dots & f(m-1,1) \\ \vdots & \vdots & & \vdots \\ f(0,n-1), & f(1,n-1), & \dots & f(m-1,n-1) \end{array} \right\} = f(x,y)$$

IV.1

En donde $f(x, y)$ representa aproximadamente a la escena y cada elemento de la imagen digital (matriz), una región de la escena o un CIV. Asimismo, como se mencionó anteriormente, existe una relación unívoca entre cada elemento de la matriz y cada CIV de la escena. Por otra parte, m y n corresponden al número de elementos de la matriz, es decir la resolución espacial de la imagen digital.

Es necesario precisar algunas características inherentes a las imágenes digitales que nos permitan ubicar las técnicas de manipulación y procesamiento a las mismas.

4.2 DOMINIO ESPACIAL.

El dominio espacial o dominio de la imagen está constituido por el arreglo de los elementos de la misma, es decir, es la matriz numérica en la cual están contenidos los valores de todos los elementos que forman la imagen. Algunas técnicas de procesamiento se aplican directamente en el dominio de la imagen ya que en algunos casos los resultados son similares a los obtenidos utilizando algún tipo de transformación y requieren menor tiempo de proceso. En el presente trabajo se describen principalmente las

técnicas aplicadas en el dominio espacial de la imagen (Jahne, B, 1991; Jain, A. K., 1989).

Las técnicas de mejoramiento de la imagen en el dominio espacial están basadas en el mapeo de los niveles de gris, donde el tipo de muestreo depende del criterio elegido para el mejoramiento.

Es importante para este caso tener en cuenta la cuantificación del contraste de la ID, ya que las manipulaciones aplicadas en el dominio de la imagen tienen repercusión directa sobre este parámetro (Figura 12).



Figura 12. Dominio espacial. a) escena, b) imagen digital, c) dominio espacial.

4.3 DOMINIO DE FRECUENCIAS.

Dado que las imágenes digitales pueden ser representadas como funciones bidimensionales discretas, es muy útil tener su representación en el dominio de frecuencias, el cual se fundamenta en el teorema de convolución (González, R. C., 1977), y aunque existen diversos tipos de transformadas como las de Fourier, Walsh, Hadamard, coseno discreto y Hotelling, la más utilizada para ello es la transformada de Fourier, ya que ésta posee características que simplifican la manipulación de la imágenes,

dado que la magnitud (espectro) posee características cualitativas y cuantitativas de la imagen. Adicionalmente la manipulación relativamente fácil del espectro de frecuencias permite resaltar o atenuar algunas características de la imagen. Existen algoritmos eficientes para su cálculo y manipulación en computadora.

Las técnicas para lograr el mejoramiento de una imagen en el dominio de frecuencias se refieren a la manipulación entre otras de la transformada de Fourier (TDF) de la imagen.

Una de las formas de manipular el dominio de frecuencias es la de aplicar diversos tipos de filtrado al espectro obtenido de la imagen.

Dependiendo del tipo de frecuencia espacial que seleccionan, los filtros se pueden clasificar en pasa-bajas, pasa-altas y pasa-bandas, pudiendo estos adicionarse o manipularse para formar filtros más complejos o específicos para determinado problema en particular (Figura 13).



Figura 13. Dominio de frecuencias a) escena, b) imagen digital, c) dominio de frecuencias (espectro).

4.4 DOMINIO TEMPORAL.

Para el caso particular del presente trabajo se considerará los sistemas de generación de imágenes como invariables frente al tiempo y a los procesos de captura de las mismas como instantáneos, sin embargo, en los sistemas biológicos es muy importante la valoración del cambio temporal para establecer magnitudes de cambio, ya que este hecho es de gran significancia sobre todo en estos sistemas, ya que presentan una alta dinámica con respecto al tiempo. La comparación para evaluar cambio temporal mediante imágenes de manera general se realiza a partir de dos de ellas tomadas instantáneamente, dejando transcurrir un intervalo de tiempo entre una y otra imagen y luego su comparación mediante operaciones lógicas o aritméticas.

5 TÉCNICAS BÁSICAS DE PROCESAMIENTO DIGITAL DE IMAGEN.

Para la descripción de las técnicas básicas de PDI nos referiremos de manera particular a procesos para el mejoramiento, restauración, o realce. Dentro de estos casos daremos mayor énfasis a los procesos de mejoramiento o realce que pueden ser aplicados a las imágenes, ya que son éstos los más comúnmente empleados para lograr objetivos específicos dentro del procesamiento digital de las mismas. Sin embargo, es importante señalar que existe una gama de procedimientos encaminados a la identificación o reconocimiento de patrones dentro de la imagen, es decir a su interpretación automatizada, tema que no se revisará en el desarrollo del presente capítulo.

4.4 DOMINIO TEMPORAL.

Para el caso particular del presente trabajo se considerará los sistemas de generación de imágenes como invariables frente al tiempo y a los procesos de captura de las mismas como instantáneos, sin embargo, en los sistemas biológicos es muy importante la valoración del cambio temporal para establecer magnitudes de cambio, ya que este hecho es de gran significancia sobre todo en estos sistemas, ya que presentan una alta dinámica con respecto al tiempo. La comparación para evaluar cambio temporal mediante imágenes de manera general se realiza a partir de dos de ellas tomadas instantáneamente, dejando transcurrir un intervalo de tiempo entre una y otra imagen y luego su comparación mediante operaciones lógicas o aritméticas.

5 TÉCNICAS BÁSICAS DE PROCESAMIENTO DIGITAL DE IMAGEN.

Para la descripción de las técnicas básicas de PDI nos referiremos de manera particular a procesos para el mejoramiento, restauración, o realce. Dentro de estos casos daremos mayor énfasis a los procesos de mejoramiento o realce que pueden ser aplicados a las imágenes, ya que son éstos los más comúnmente empleados para lograr objetivos específicos dentro del procesamiento digital de las mismas. Sin embargo, es importante señalar que existe una gama de procedimientos encaminados a la identificación o reconocimiento de patrones dentro de la imagen, es decir a su interpretación automatizada, tema que no se revisará en el desarrollo del presente capítulo.

5.1 MEJORAMIENTO.

Uno de los objetivos primordiales del mejoramiento de una ID es la de obtener como resultado una imagen que cumpla con las características cualitativas y cuantitativas que nos permita realizar una adecuada apreciación visual de la misma, imposibilitado esto por una baja calidad visual de la imagen problema. Es importante señalar que los resultados de los procesos de mejoramiento son subjetivos y siempre están con relación a las necesidades de visualización del especialista.

El mejoramiento de una imagen digital se refiere al realce o atenuación de ciertos atributos u objetos en la imagen, tales como bordes o contornos o incrementos en el contraste, de tal modo que la apreciación visual de la misma tenga características tales que nos permitan realizar el proceso de análisis o extracción de información mucho más fácil y exacto. En términos generales el mejoramiento de la imagen no incrementa la información contenida en la imagen; el rango dinámico de los objetos a identificar generalmente es ampliado para ser fácilmente detectables.

Se incluyen dentro de las técnicas de mejoramiento de imágenes:

- Manipulación de histograma y niveles de gris
- Manipulación de contraste
- Eliminación de ruido
- Detección o eliminación de bordes
- Filtrado
- Acercamiento e interpolación
- Color

Un gran problema en el mejoramiento o realce de la imagen digital es la subjetividad, debido a que es difícil evaluar la calidad del realce efectuado, ya que esto depende de los objetivos específicos o en todo caso de la apreciación del especialista. Muchas técnicas de mejoramiento de imágenes son implementadas de manera empírica y su aplicación debe ser interactiva para obtener resultados satisfactorios (Tabla 2).

En el presente trabajo se describen algunas de las técnicas más comúnmente usadas en el realce o mejora de las imágenes digitales.

Técnicas de mejoramiento de imagen		
Operadores Puntuales	Operadores Espaciales	Color
Histograma	Filtros:	Falso color
Contraste	suavizantes	Pseudocoloración
Sustracción	realzantes	
	pasa altas	
	pasa bandas	

Tabla 2. Técnica básicas de mejoramiento de imagen

5.1.1 OPERADORES PUNTUALES.

Los operadores puntuales se refieren a todas aquellas operaciones en que dado un elemento de imagen o un nivel de gris comprendido dentro del rango dinámico, éste es trasladado a un nuevo valor, determinado precisamente por este operador (Figura 14), es decir, que el operador actúa localmente en cada uno de los elementos de la imagen proporcionando un nuevo valor resultante, el cual es el valor correspondiente en la imagen realzada. Es importante notar que los operadores puntuales actúan únicamente respecto a los valores de los elementos de una imagen independientemente de la disposición espacial de éstos.

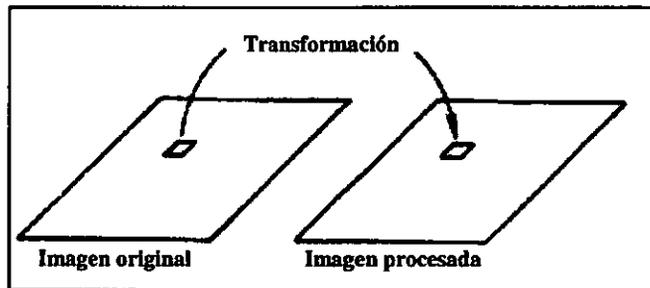


Figura 14. Operadores puntuales

Existe un conjunto de operaciones básicas, tales como manipulación de contraste, imágenes negativas, compresión del rango dinámico, fraccionamiento del nivel de gris, sustracción y adición de imágenes y manipulación del histograma.

El contraste (C) de una imagen digital se refiere a la distribución de los niveles de gris contenidos en el rango dinámico de la imagen y a su distribución dentro de la misma, pudiendo ser cuantificado numéricamente como se describe:

$$C = \frac{Ngmáx}{Ngmín} \quad v.I$$

$$C = Ngmáx - Ngmín \quad v.II$$

6

donde $Ngmáx$ es el nivel de gris o radiación máxima, $Ngmín$ es el nivel de gris mínimo (Schowengerdt, R. A., 1983), de lo que se infiere que a valores de C relativamente grandes tendríamos, de manera local, valores de los elementos de la imagen relativamente lejanos, es decir, en una región de la imagen con alto contraste.

Es importante contar con este tipo de parámetros de la imagen, ya que tienen gran relevancia en la medición de ruido presente en la ID, así como en la manipulación del contraste.

La manipulación del contraste está definida como una transformación radiométrica y puede ser efectuada a partir del histograma de distribución de frecuencia de los niveles de gris en la imagen, es decir, que el valor de cada elemento de la imagen es cambiado por un nuevo valor asignado por una función de transformación lo que nos permite tener una eventual mejoría en la representación visual de la misma. Sin embargo, hay que hacer notar que de los cambios en el contraste se obtienen resultados subjetivos, ya que tiene una componente de apreciación individual.

El histograma de niveles de gris de una imagen representa la frecuencia relativa de ocurrencia de los niveles de gris en la imagen y se caracteriza de la siguiente manera: Sea "g" un nivel de gris comprendido entre los valores máximo y mínimo ($0 \leq g \leq 1$), es decir el rango dinámico donde el valor 0 corresponda al nivel de radiación mínimo y el valor 1 al valor máximo, por ejemplo, negro y blanco respectivamente. Se puede construir el histograma a partir del cálculo de probabilidad de ocurrencia de los niveles de gris dentro de la imagen.

El histograma de una imagen digital con un rango dinámico [0,n-1] se puede representar como una función discreta $p(g_k) = n_k/n$ donde g_k es el g -ésimo nivel de gris, n_k es el número de píxeles en la imagen con el nivel o valor g , n es el número total de píxeles en la imagen y $k=0, 1, 2, \dots, n-1$.

El valor de $p(g_k)$ nos da la probabilidad de ocurrencia del valor g_k , la gráfica de esta función para todos los valores de k nos da una descripción global de la imagen digital.

Es importante notar que el histograma de niveles de gris de una imagen digital sólo representa el número total de los elementos de la imagen en cada nivel de gris, independientemente de la distribución espacial de éstos en la imagen (Chochia, P. A., 1988).

Al observar el histograma de una imagen se puede obtener una caracterización de ésta en términos de su brillantez así como de su contraste visual, ya que el histograma de una ID lo podemos identificar aproximadamente como el promedio de la imagen (Figura 15) debido a que los histogramas de un conjunto aleatorio de imágenes tienden a tener una distribución gaussiana (Media Cybernetics, 1992).

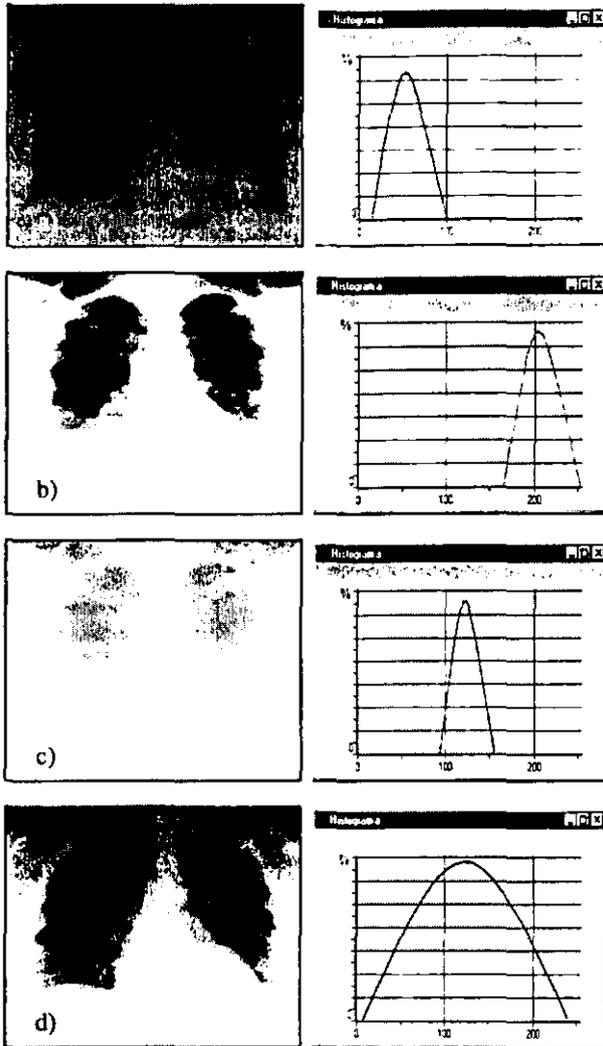


Figura 15. Histogramas esquemáticos característicos de imágenes digitales: a) baja radiación, b) alta radiación, c), bajo contraste, d) alto contraste.

Con la información contenida en el histograma de la ID es posible efectuar la operación de transformación del histograma, de manera que cada nivel de gris de entrada le corresponda un nivel de gris de salida modificado por un operador de transformación. Es decir, si suponemos que tenemos e y s que correspondan al valor de un pixel en la imagen original y en la imagen resultante respectivamente, y si suponemos que por cada pixel en el intervalo $[0,1]$, es decir del negro al blanco, se genera uno nuevo, tendremos la siguiente relación:

$$s = T(e) \qquad \text{V.III}$$

donde $T(e)$ denota una función de transformación siempre que $0 \leq e \leq 1$, donde 0 = negro y 1 = blanco. Asimismo, la ecuación V.III tiene que cumplir con los siguientes dos requisitos: 1) $T(e)$ tiene un solo valor y es monótonamente creciente en el intervalo $0 \leq e \leq 1$, es decir, el rango dinámico, lo cual garantiza la conservación de negro a blanco. 2) $0 \leq T(e) \leq 1$, para $0 \leq e \leq 1$, es decir, que los valores de s quedarán dentro del rango de la imagen original.

Generalmente $T(e)$ es una función lineal del tipo:

$$T(e) = ms + b \qquad \text{V.IV}$$

donde m es el tipo de cambio (pendiente) de la imagen resultante con respecto a la imagen original y b es una constante que permite controlar el umbral del valor más cercano a cero en la imagen resultante (Figura 16).

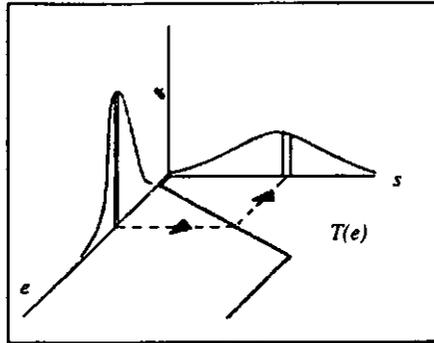


Figura 16 Transformación lineal del histograma.

Los efectos de $T(e)$ eventualmente redundan en una mejoría del contraste, en todo caso, pueden conducir a un empleo óptimo del rango dinámico de la imagen, y por otro lado, dependiendo de las características de la imagen (su histograma o contraste), se puede mejorar la imagen mediante la técnica de normalización del histograma, lo cual se logra al controlar la función de densidad probabilística de los niveles de gris mediante la función $T(e)$. Por ejemplo, esta técnica es útil en el mejoramiento de imágenes capturadas con poca iluminación, donde el empleo de la técnica permite que la función de transformación ($T(e)$) traslade a un nuevo histograma con distribución óptima en el rango dinámico. Por otro lado, es posible la manipulación del histograma mediante otras funciones (logarítmicas, exponenciales, trigonométricas, etc.), teniendo cada una de estas funciones resultados específicos sobre el histograma y la imagen misma (Figura 17).

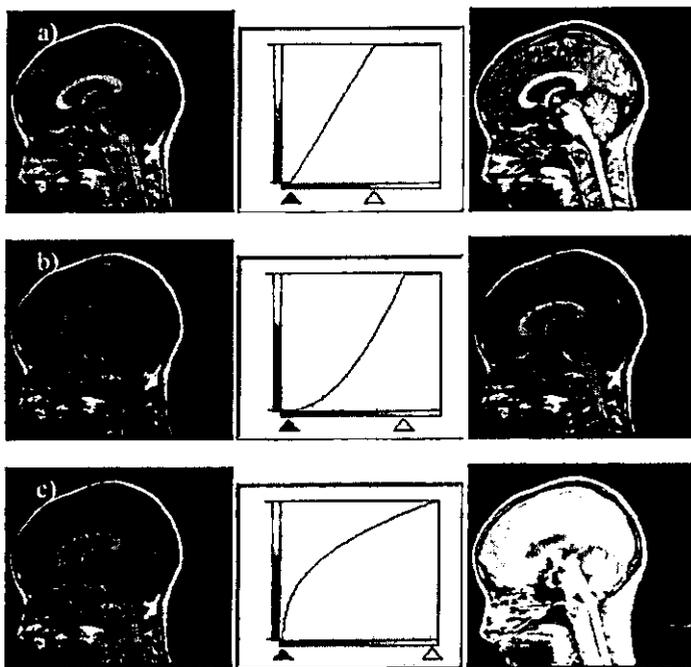


Figura 17. Transformación del histograma a) lineal, b) logarítmica, c) exponencial

Cabe recordar que todas las manipulaciones al histograma descritas anteriormente se aplican globalmente a la imagen *pixel por pixel*.

Un caso extremo de la manipulación del histograma es la *fronterización* o *segmentación* de imágenes (Hertz, L., 1988). A partir de la imagen original se establece la separación de los valores del rango dinámico en solo dos clases de acuerdo a un criterio de *fronterización* arbitrariamente preestablecido. Es decir, se pueden seleccionar algunos de los tonos de gris del rango dinámico para representar visualmente la imagen con el resultado de observar regiones bien delimitadas dentro de la misma (Figura 18).

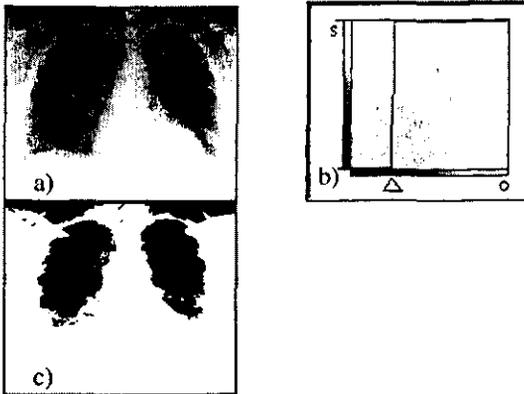


Figura 18. Segmentación de imágenes digitales. a) imagen original. b) función de transformación e histograma imagen original (o). Imagen segmentada (s), c) imagen segmentada.

Este tipo de manipulación, de manera general, no permite una mejora en la calidad visual total de la imagen, pero es muy útil para la identificación de formas, asimismo se podría considerar esta técnica como un caso extremo de la transformación lineal del histograma. Una de las limitaciones es su utilización en imágenes con homogeneidad en los niveles de gris donde los valores están muy cercanos entre sí en el rango dinámico.

Sustracción de imágenes: esta operación se logra calculando la diferencia correspondiente a los pixeles de dos imágenes. El efecto resultante es la obtención de una tercera imagen que muestra

efectivamente la diferencia entre ambas. Esta técnica es el fundamento de la angiografía por sustracción digital, donde el objeto es observar la vascularización contrastada mediante una sustancia radiopaca (Figura 19).



Figura 19. Angiografía por sustracción digital. La imagen muestra la sustracción de dos imágenes para evidenciar el medio de contraste en la vascularización

5.1.2 OPERADORES ESPACIALES.

Algunas técnicas de mejoramiento están basadas en operadores espaciales aplicados a vecindades locales de elementos de imagen mediante filtros espaciales, caracterizados por una *ventana espacial* (V) generalmente de dimensiones impares $(2k+1*2l+1)$, mediante la cual se obtendrá un nuevo valor que reemplazará al pixel central de esta ventana como sigue (Figura 20):

$$s(m,n) = \sum_{(k,l) \in V} \Sigma a(k,l) i(m-k, n-l) \quad V.V$$

En $V.V$ $i(m,n)$ y $s(m,n)$ son las imágenes de entrada y salida respectivamente, V es la ventana dentro de la imagen, no incluido el valor central de la misma, y $a(k,l)$ son los parámetros del filtro o transformación.

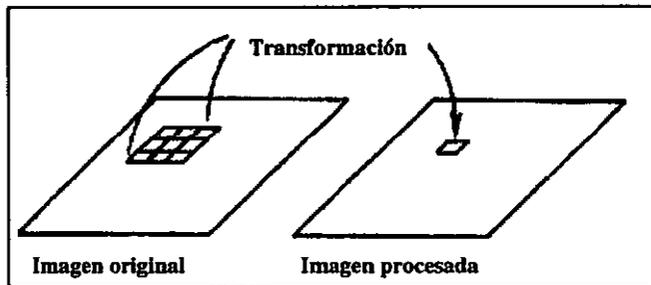


Figura 20. Operadores espaciales.

En este caso la transformación no solo depende del valor del pixel a ser procesado, sino de los valores de sus vecinos. Es por eso que a este tipo de transformación se le conoce también como “transformaciones dependientes del contexto”.

Una buena aproximación a los filtros mas comúnmente aplicados en el dominio espacial, es la suma de los productos entre los valores de las intensidades de los pixeles en una vecindad dada y una “mascarilla” de

coeficientes (Figura 21), de esta manera los valores R de la imagen resultante estarían dados por:

$$R = c_1 p_1 + c_2 p_2 + \dots + c_9 p_9 \quad V.VI$$

C1	C2	C3
C4	C5	C6
C7	C8	C9

p1	p2	p3
p4	p5	p6
p7	p8	p9

Figura 21. Operadores espaciales. a) coeficientes del filtro, b) vecindad de la imagen.

Donde p_1, p_2, \dots, p_9 representan los valores de los píxeles en la vecindad y C_1, C_2, \dots, C_9 representan los coeficientes de la "mascarilla". El valor central de la vecindad es reemplazado por los valores de R, desplazando a la mascarilla en una unidad de imagen y efectuando iterativamente las operaciones se obtendrá la imagen resultante a la aplicación del filtro, determinado por los coeficientes anteriormente descritos.

De manera general se pueden identificar dos tipos de filtros dependiendo de los efectos que ocasionen sobre el espectro de frecuencia de la imagen: filtros pasa-bajas y filtros pasa-altas.

La aplicación de filtros en el dominio de frecuencias de la imagen es muy comúnmente usados ya que existen algoritmos de fácil aplicación ya que estos están basados en el teorema de convolución de dos señales.

Si tenemos dos funciones $f(x)$ y $h(x)$, y su transformada de Fourier $\mathcal{S}\{f(x)\} = F(k)$ y $\mathcal{S}\{h(x)\} = H(k)$ respectivamente.

El teorema de convolución indica que si $g = f \otimes h$

$$\mathcal{S}\{g\} = \mathcal{S}\{f \otimes h\} = \mathcal{S}\{f\} \cdot \mathcal{S}\{h\} \quad V.VII$$

$$G(k) = F(k)H(k) \quad V.VIII$$

donde $\mathcal{S}\{g\} = G(k)$

Es decir, la convolución de dos funciones g , es igual a la transformada de Fourier del producto de la transformada de Fourier de estas funciones (Hecht, 1974).

Así que, seleccionando un operador adecuado podemos encontrar que la convolución de la imagen y este operador puede traer mejoras o realces a una imagen problema.

5.1.2.1 FILTROS SUAVIZANTES.

La aplicación de un filtro suavizante o pasa-bajas a una ID tiene como consecuencia la atenuación de la amplitud de los componentes altos de la frecuencia espacial, los cuales están caracterizados por cambios bruscos de intensidad en la imagen, es decir por cambios bruscos de contraste, teniendo como resultado una imagen homogeneizada (*borrosa*), es decir de bajo contraste visual, lo que implicaría una reducción de las clases de niveles de gris en su histograma de distribución de los mismos. Es útil obtener imágenes borrosas en ciertas partes del procesamiento, con el fin de reducir ruido o algunos pequeños detalles o rellenar pequeños espacios entre objetos presentes en la imagen (Figura 22).

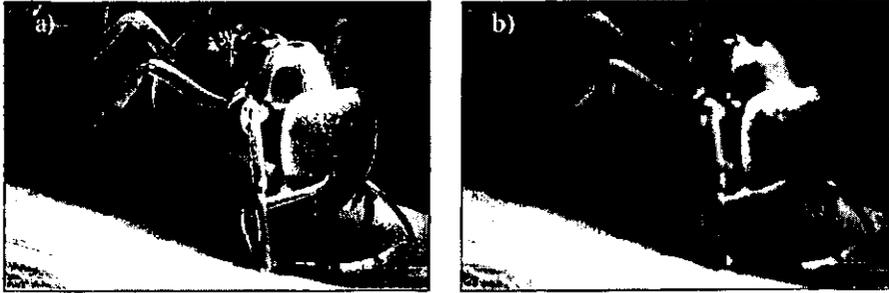


Figura 22. Filtro suavizante o pasa bajas. a) Imagen original, b) Imagen filtrada.

5.1.2.1.1 FILTRO DE MEDIA.

Esta técnica aplicada en el dominio espacial de la imagen consiste en seleccionar una porción delimitada de la imagen o ventana y efectuar una promediación aritmética de los valores de la vecindad de un elemento dado para sustituir el valor promedio de la vecindad por el valor del elemento de imagen original, lo que trae como consecuencia la disminución de la diferencia de intensidades entre un pixel y sus vecinos, o sea una sensación visual de imagen *borrosa*.

$$s(m,n) = \frac{1}{N_v} \sum_{(k,l) \in V} s_i(m-k, n-l) \quad V.IX$$

donde $a(k,l) = \frac{1}{N_v}$ de la ecuación anterior y N_v es el número de pixeles en la ventana V .

La mascarilla de filtrado tendría los coeficientes mostrados en la figura 24, sin embargo, dado que la suma de los productos de los coeficientes y los valores de los pixeles resultarían en una R con valores

mayores a los contenidos en el rango dinámico, se hace necesario dividir los valores de R entre el número de píxeles en la vecindad, en este caso 9. Sin embargo, es posible utilizar otras dimensiones tanto en la vecindad de la imagen como en el tamaño de la rejilla de los coeficientes obteniéndose resultados diversos sobre la imagen digital dependiendo del tamaño de estas vecindades (figuras 23,24).

$$\frac{1}{9} X$$

1	1	1
1	1	1
1	1	1

Figura 23. Mascarilla del filtro de media.

Esta técnica es útil para la eliminación de ruido aleatorio presente en la imagen, pero tiene el inconveniente que incrementa el ruido periódico, es decir, aquél que presenta un patrón establecido dentro de la imagen. Además es muy útil para detectar regiones de concentración de píxeles con intensidad similar (Figura 25).

$$\frac{1}{25} X$$

1	1	1	1	1
1	1	1	1	1
1	1	1	1	1
1	1	1	1	1
1	1	1	1	1

Figura 24. Es posible utilizar diversos tamaños en las "mascarillas" de los coeficientes de filtrado.



Figura 25. Filtro de media. a) Imagen original con ruido periódico, b) Imagen resultante filtrada con filtro de media.

5.1.2.1.2 FILTRO DE MEDIANA.

En este caso el pixel central es reemplazado por la mediana de los valores de los pixeles contenidos en la ventana de la vecindad dada:

$$s(m, n) = \text{mediana}\{i(m - k, n - l), (k, l) \in V\} \quad \forall X$$

donde V es la ventana. La aplicación del algoritmo de mediana requiere el arreglo en orden creciente o decreciente de los valores de los pixeles contenidos en la ventana y seleccionar el valor central en la lista formada (mediana).

El empleo de este filtro es útil (Schowengerdt, R. A., 1983) para remover líneas aisladas de pixeles y su resultado es malo cuando el número de pixeles *ruidosos* es mayor o igual a la mitad del numero de pixeles en la ventana.

De manera general este filtro es empleado cuando el objetivo es la eliminación de ruido más que la eliminación de bordes. Es útil para la eliminación de patrones de ruido de forma "picuda" (Figura 26)

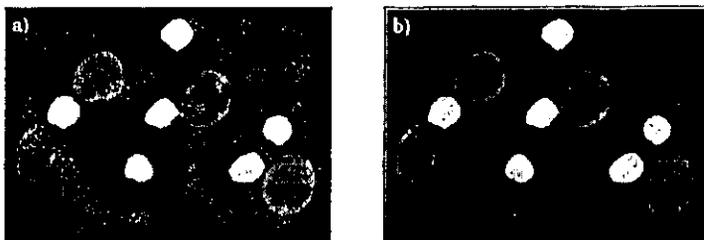


Figura 26. Filtro de media. a) Imagen original con ruido, b) Imagen resultante filtrada con filtro de mediana.

5.1.2.2 FILTROS REALZANTES.

Los filtros realzantes o pasa-altas tienen la cualidad de aumentar el detalle en la ID ya que tienen la capacidad de resaltar bordes dentro de la imagen (Teuber, J. 1993). Las frecuencias altas en el espectro de frecuencias (González, R. C., 1992) son responsables de las características lentamente variables de la imagen tal como el contraste global. La aplicación del filtrado pasa-altas es muy útil en la detección de contornos o bordes, combinando éste con la técnica de fronterización (Teuber, 1993), aunque tienen la desventaja de que aumenta el ruido periódico dentro de la imagen y además produce imágenes oscuras con un histograma de clases de niveles de gris cercanas a cero. Una técnica muy simple de filtrado pasa-altas es la sustracción a una imagen filtrada con pasa-bajas de su imagen original (Schowengerdt, 1983) (Figura 27).

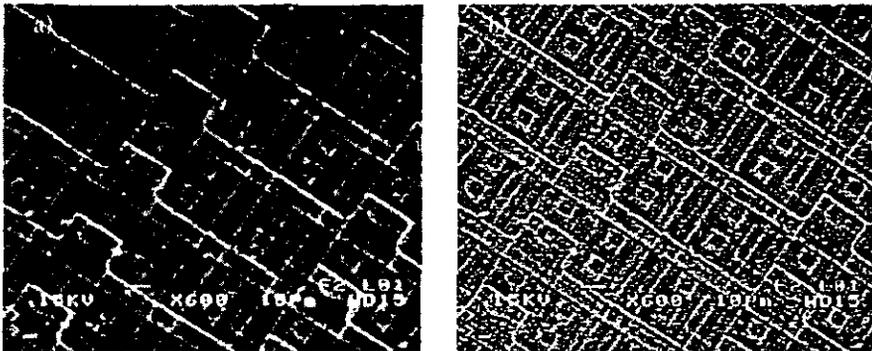


Figura 27. Filtro realzante. a) Imagen original. b) Imagen filtrada.

5.1.2.2.1 FILTRO DIRECCIONAL.

Intuitivamente se puede decir que la “mascarilla” de superposición de un filtro pasa-altas tiene que incluir coeficientes negativos en la periferia y positivos en el centro como se muestra en la figura 28, la cual muestra la implementación clásica de un filtro pasa-altas.

$$\frac{1}{9} X$$

-1	-1	-1
-1	8	-1
-1	-1	-1

Figura 28. Filtro direccional pasa-altas.

El resultado de aplicar este filtro sobre regiones de la imagen con valores muy homogéneos o con poca variación nos da como resultado una R con valores muy cercanos a cero y cuando existen valores muy contrastantes obtenemos valores más altos, lo que permite resaltar los cambios bruscos de intensidad en la imagen y atenuar las regiones de poco contraste dentro de la misma (Figura 29).

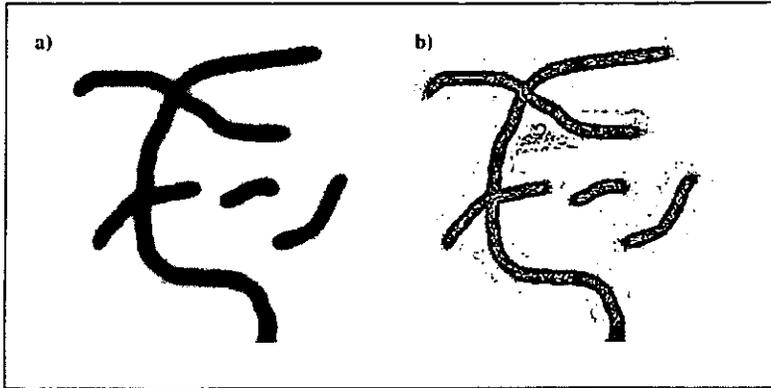


Figura 29. Filtro pasa-altas. a) imagen original, b) imagen resultante.

La aplicación de este tipo de filtros trae como consecuencias la aparición de valores de gris negativos, por lo que es necesario efectuar una corrección de los valores resultantes mediante alguna manipulación del histograma de la imagen resultante.

5.1.2.2 FILTRO DIFERENCIAL.

La aplicación de un filtro de media tiende a efectuar una homogeneización de la imagen produciendo un efecto borroso sobre la imagen. Como este proceso es análogo a la integración, es de esperarse que el efecto inverso, es decir, el realce de una imagen sería el equivalente a la diferenciación. La técnica mas comúnmente empleada para esta técnica es la de gradiente. Existe para este propósito un conjunto de algoritmos que emplean diversas mascarillas para la aplicación de este filtro, entre estas están el filtro de gradiente de Roberts (Figura 30-31), operador de Prewitt, Sobel (Figura 32-33), etc.

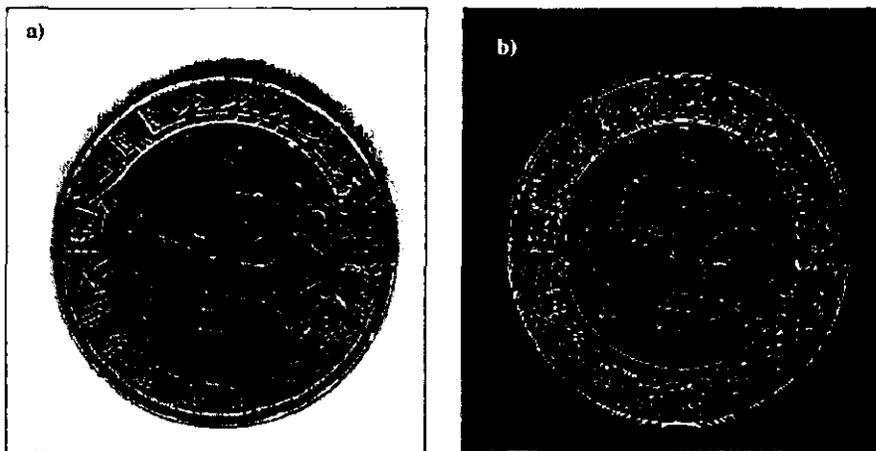


Figura 30. Filtro de gradiente de Roberts a) Imagen original b) Imagen resultante.

El filtro de Roberts realiza los bordes en la imagen. Este aplica en una vecindad par, de 4 x 4 o de 2 x 2. En este caso el pixel superior izquierdo es reemplazado.

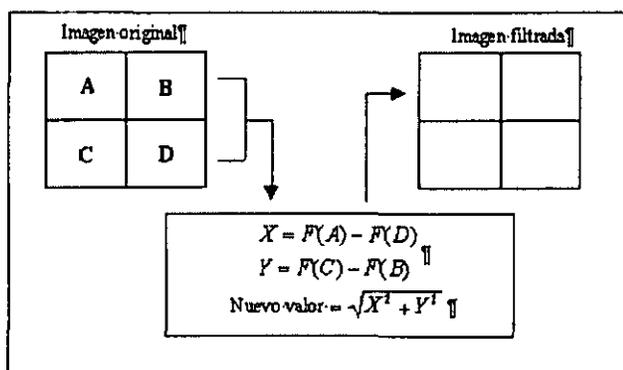


Figura 31 Esquema del filtro de Roberts.

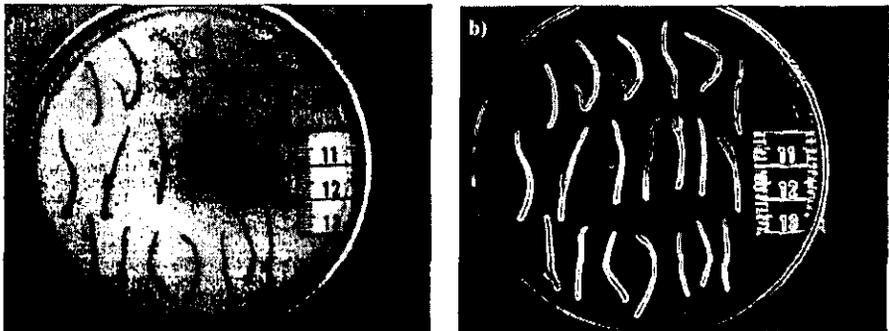


Figura 32. Filtro de Sobel. a) Imagen original b) Imagen resultante.

El filtro de Sobel realiza los bordes principales en la imagen, utiliza una vecindad de 3 x 3 donde al pixel central es reemplazado.

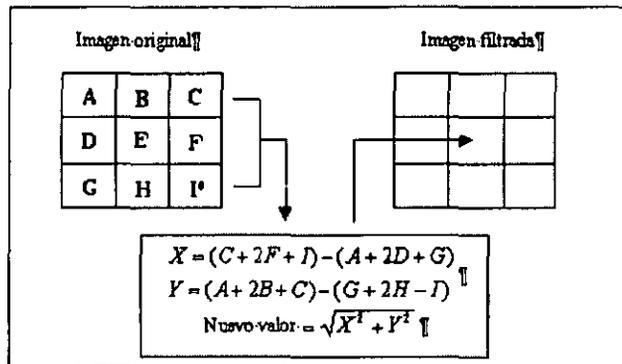


Figura 33. Esquema del filtro de Sobel

5.1.3 COLOR.

Resulta de gran importancia el empleo de color en el procesamiento digital de imagen ya que el ojo humano es capaz de identificar miles de colores comparado con tan solo unos veinte tonos o niveles de gris, determinado esto por el número y disposición de las células fotosensibles en la retina, los bastones y los conos.

La aplicación de la técnica de color en el PDI se divide en dos grandes áreas: el falso color y el pseudocolor.

La formación de una imagen digital en pseudocolor o color verdadero se puede lograr a partir de un conjunto de imágenes, por ejemplo una imagen multispectral, en la cual cada banda de imagen registrada corresponda a una longitud de onda determinada de la misma escena, siendo ésta reconstruida en un monitor a color en el cual la imagen respectiva a cada longitud de onda corresponda a un cañón de electrones del color deseado. Este tipo de procedimiento puede ser útil para la visualización de una imagen en color "real", es decir, que se tengan tres bandas registradas en las frecuencias del rojo, verde y azul respectivamente (Figura 34).

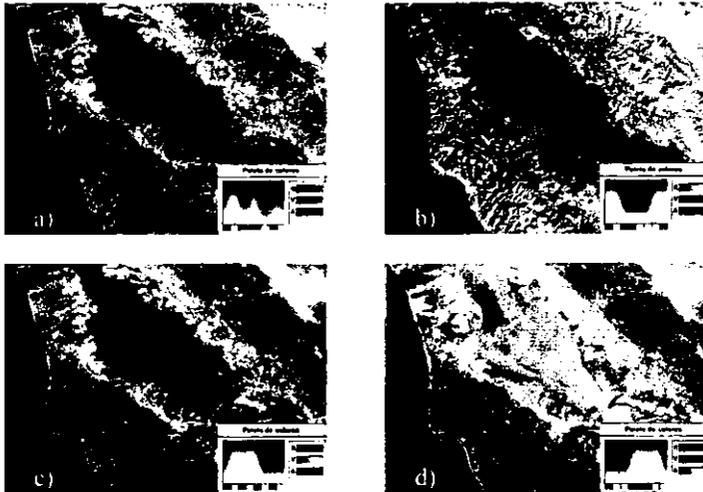


Figura 34. Pseudocolor. a) Imagen compuesta, b) Canal rojo, c) Canal verde, d) Canal azul.

Para la visualización de conjuntos de elementos de imagen con igual tonalidad de gris se utiliza la técnica de falso color, la cual consiste en la asignación arbitraria de un color a un determinado nivel de gris o conjunto de niveles de gris, dependiendo de las necesidades de visualización. Esto nos permite “ver” rangos de niveles de gris que no sean perceptibles al ojo humano, lo cual es de gran utilidad, ya que con ello se puede contar con un rango de visualización más adecuado al cambiar por colores muy contrastantes regiones de poco cambio en los niveles de radiación (Figura 35).

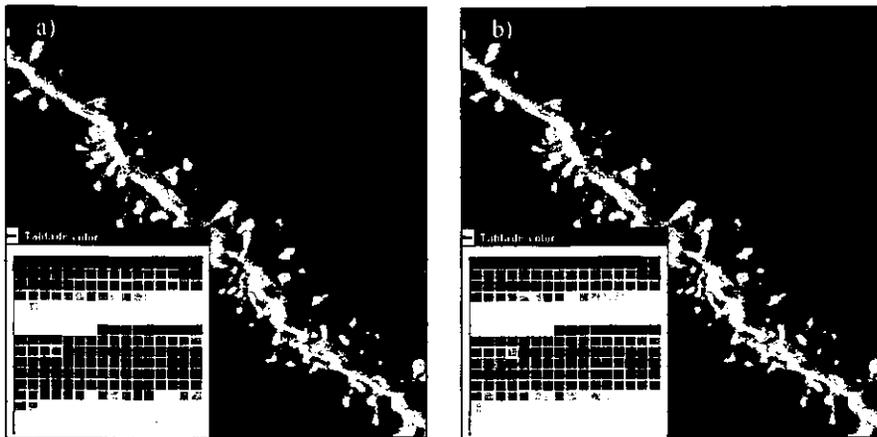


Figura 35. Dendritas neuronales. Falso color a) imagen en falso color, b) Imagen original.

Esta técnica nos permite la identificación o delimitación de regiones en la imagen digital con la misma radiación, lo cual es útil para la identificación de regiones con concentraciones similares en la técnica de autoradiografía (Figura 36).

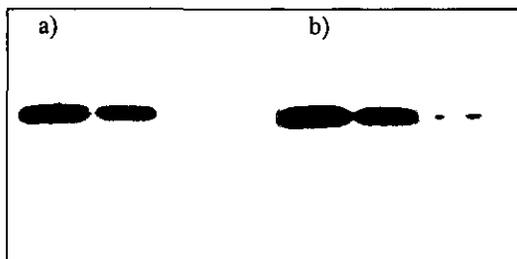


Figura 36. Autorradiografía. Falso color a) imagen original, b) imagen en falso color. Colores similares indican concentraciones iguales.

5.2 IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN.

La identificación de objetos al interior de la imagen resulta de gran interés para la valoración de las imágenes con propósitos cuantitativos. Para el histólogo y el morfológico es importante contar con elementos fehacientes sobre el número de células que se encuentran en determinado agrupamiento celular, así como para el radiólogo es de vital importancia conocer las dimensiones reales de un tumor cerebral para diseñar un proyecto de abordaje quirúrgico, para lo cual es indispensable para ambos especialistas contar con parámetros como número de elementos estructurales dentro de la imagen (células por ejemplo), forma, área, diámetros, orientación, perímetro, etc. que le permitirán elevar la eficiencia en el desempeño de su trabajo técnico o de investigación.

Parte fundamental para la resolución de este tipo de problemas lo constituye la detección de las formas que eventualmente nos interesa medir, para lo cual es importante mencionar por lo menos dos técnicas de detección de formas (por segmentación) dentro de la imagen además de las implícitamente ya mencionadas (ver cap. 5.2.1).

5.2.1 SEGMENTACIÓN.

La segmentación de una imagen consiste en la partición del espacio de la misma en regiones de píxeles, que compartan características similares de intensidades, construyéndose regiones que podríamos identificar como objetos en la imagen, lo cual permite la detección de estructuras contenidas por bordes de igual intensidad dentro de la misma.

Esta técnica puede ser descrita también como la partición del rango dinámico de la imagen en sólo dos clases, usando un criterio de corte de acuerdo a los objetivos específicos de cada caso, quedando entonces, un histograma con sólo dos clase de niveles de gris (Figura 37).

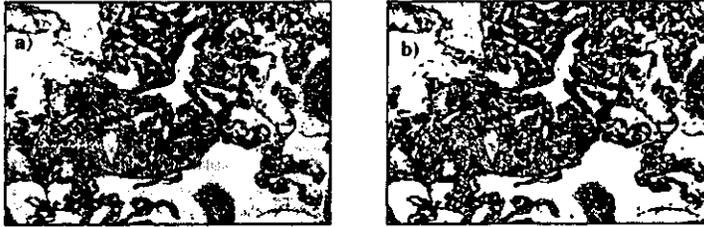


Figura 37. Micrografía de glándula pineal. Segmentación. a) Imagen original. b) Imagen segmentada

5.3 SÍNTESIS.

En el campo de la medicina y en particular la neurología, es factible la formación de imágenes a partir de las señales eléctricas producidas por el cerebro (mapeo cerebral) o mediante la técnica de tomografía por emisión de positrones (TEP), de la cual se obtiene una imagen de la actividad fisiológica del cerebro en términos de consumo de energía (Buchsbaum, M. S., 1986). Sin embargo, es factible la generación de reconstrucciones tridimensionales (Xu, B. S., 1988; Levin, N., 1989a; Tanaka, Y., 1989) de estructuras cerebrales a partir de planos obtenidos por las diversas técnicas de obtención de neuroimagen (resonancia magnética, tomografía, microscopía, etc.) (Stein, A., 1984; Rakic, P., 1974; Levinthal, C., 1972). Es posible por otro lado, la elaboración de modelos explicativos de la función y estructura del sistema nervioso al conjugar la TEP con reconstrucciones tridimensionales del cerebro y otras

estructuras (Levin, N., 1988,1989b; Churchil, P. 1989; Toga, W. A., 1987), (Figura 38).



Figura 38 Imágenes sintéticas. Reconstrucción tridimensional de pelvis.

6 LA IMAGEN EN LA BIOLOGIA.

Dentro de las especialidades de la medicina es la neurología la que más requiere de las imágenes para el diagnóstico clínico de las enfermedades del sistema nervioso, ya que es sabido que la pérdida o alteración de tan sólo una pequeña parte de tejido nervioso podría traer serias consecuencias para el paciente en estudio. Lo anterior ha tenido como resultado el desarrollo de técnicas de diagnóstico y evaluación no invasivas y entre ellas las técnicas de generación de imágenes con importancia en la neurología.

6.1 TIPOS DE IMAGEN.

Las imágenes dentro de la biología pueden agruparse en dos grandes tipos: imágenes de microscopía e imágenes de radiología. Dentro de las primeras tenemos:

6.1.1 MICROSCOPIA FOTÓNICA.

La microscopía óptica se emplea en el área de patología para efectuar valoraciones de los cambios histológicos en tejido nervioso (a nivel tisular o celular). Asimismo se emplean en el área de investigación para valoraciones histológicas de técnicas experimentales (lesión, inyección, implantación, trasplante, etc.), así como en análisis morfológicos de ciertas regiones del sistema nervioso. Estas imágenes son comúnmente registradas en medios fotográficos para su posterior análisis (Figura 39).

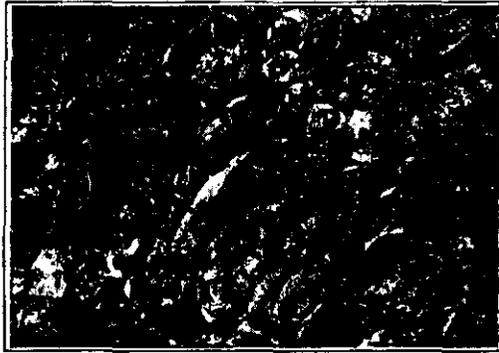


Figura 39. Microscopía fotónica.

6.1.2 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA.

Es utilizada para valorar morfológicamente estructuras celulares dentro de patologías características. Así mismo es útil para efectuar valoraciones experimentales de morfología celular en condiciones experimentales (Garza, M., 1989; Wilson, J., 1987) (Figura 40).



Figura 40. Microscopía electrónica. *Penicillium* sp. Microscopía electrónica confocal

6.1.3 RAYOS X.

La imagen de rayos X (RX) se obtiene mediante la emisión de electrones, generados por calentamiento de un cátodo. Los electrones chocan y rebotan en el ánodo y así se obtiene la emisión del haz de RX. La radiación atraviesa los tejidos saliendo de éstos con diferente intensidad de acuerdo a la densidad tisular. La radiación resultante llega a una placa radiográfica e imprime una imagen debido a la fluorescencia que ocasiona el choque de electrones en las pantallas del chasis radiográfico.

La imagen obtenida por RX tiene múltiples usos en todas las especialidades de la medicina. En la neurología, aunque su uso está en decadencia, actualmente se utiliza en estudios de cráneo principalmente, así como de estructuras óseas en el resto del organismo (Figura 41).



Figura 41. Rayos X. Imagen lateral de cráneo

6.1.4 ANGIOGRAFÍA DIGITAL.

La Angiografía por Sustracción Digital se fundamenta en los RX. La imagen se obtiene por la sobreposición de dos imágenes (de RX) de la región de estudio (imagen multiespectral), sustrayendo de éstas la imagen producida por el tejido óseo. Al administrar un material radioopaco sólo se observan las estructuras vasculares que contienen el medio de contraste. Las imágenes obtenidas mediante este equipo tienen aplicación clínica en la detección y valoración de anomalías de tipo vascular cerebral (venas y arterias), permitiendo el estudio de la enfermedad vascular en todas sus fases (Figura 42).



Figura 42. Angiografía digital. Vascularización de cerebro

6.1.5 TOMOGRAFÍA AXIAL COMPUTADA.

La Tomografía Axial Computada (TAC) permite la obtención de imágenes a través de un tubo giratorio que emite un haz de RX que atraviesa los tejidos. El haz de radiación que logra atravesar los tejidos se capta por un receptor que se encuentra en el extremo opuesto, en el cual se detecta y se mide la densidad radiográfica. Al ser procesadas estas densidades se produce la imagen. La tomografía computada es de gran utilidad, ya que permite observar directamente las estructuras del organismo en planos (axiales) de un espesor determinado, que puede ser de 1 mm a 1 cm (Figura 43).

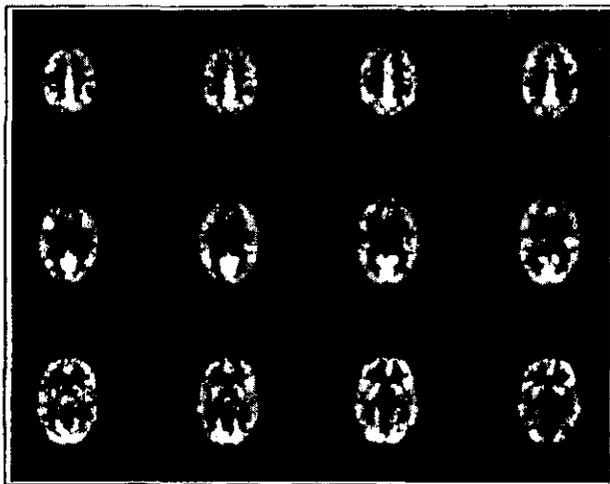


Figura 43. Tomografía axial computada. Secciones axiales de cerebro

6.1.6 RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR.

La imagen de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) se obtiene mediante la aplicación un campo magnético generado por un cable super conductor, que se encuentra enrollado formando una bobina. Este campo alinea los núcleos de hidrógeno de los tejidos. Los núcleos de hidrógeno al alinearse y volver a su estado normal genera una señal electromagnética, la cual se capta por antenas receptoras y se convierte en imagen por un sistema de cómputo.



Figura 44. Resonancia magnética nuclear. Imagen axial de cráneo.

La imagen obtenida por resonancia magnética es de enorme importancia debido a que supera la calidad de imagen obtenida por otros medios generadores de imágenes. Una de las mayores aplicaciones ha sido en el campo de la neurología, ya que permite la distinción más clara entre

los componentes del sistema nervioso central (sustancia gris y sustancia blanca), así como las diversas patologías típicas del sistema nervioso (Figura 44).

6.2 ANÁLISIS ACTUAL DE LA IMAGEN EN LA BIOLOGÍA.

El análisis rutinario que se realiza a las imágenes que se generan en la biología está de acuerdo a lo que actualmente se utiliza a escala mundial, es decir, el análisis visual, eventualmente complementado con mediciones realizadas manualmente en los monitores de los equipos de generación que lo permiten, o sobre las imágenes impresas, sobre todo en el caso particular de los morfológicos que realizan su trabajo de una manera puramente descriptiva y en algunos casos con técnicas deficientes (Haug, H., 1986). Por lo anterior es importante resaltar la ayuda de técnicas automatizadas para la manipulación de la calidad visual y la extracción de información de las imágenes que nos permita tener una mejor aproximación del diagnóstico a partir de la imagen de manera rutinaria.

7 UN EJEMPLO DE APLICACION.

El ejemplo que se muestra a continuación se refiere a la evaluación morfológica de las células de la glándula pineal de adultos neoténicos de *Ambystoma tigrinum*.

Biología

Hábitat: Estos organismos se pueden encontrar en lugares húmedos o cerca de cuerpos de agua, así como en formaciones lacustres, y en la rivera de lugares de siembra, tales como chinampas.

Hábito: Nocturno, permanece en el sedimento o bajo el agua durante el día, se alimenta de lombrices de tierra, insectos y pequeños vertebrados. Algunos ejemplares pueden congregarse cerca de los estanques durante la época de reproducción.

Localizan su comida mediante el gusto y por medio de los órganos de la línea lateral que esta compuesta por órganos sensitivos localizados a lo largo de la cabeza y el tronco. El órgano de la línea lateral detecta cambios en la presión y movimiento.

Reproducción: La reproducción ocurre a finales de las lluvias de invierno, aunque esta puede ocurrir en cualquier época con suficiente lluvia. Los huevos permanecen pegados a la vegetación o a rocas sumergidas.

Los miembros de esta especie son generalmente neoténicos, es decir permanecen en estado larvario aún cuando alcanzan la madurez sexual, y no se transforman en salamandras.

Para los organismos pertenecientes a la familia Ambystomatidae, el evitar la metamorfosis parece ser una manera de explotar los beneficios de las condiciones de su hábitat y reproducirse con un fenotipo larval.

Distribución: Las especies de *Ambystoma* están ampliamente distribuidas en Norteamérica. En México se encuentran varias especies, los comúnmente llamado ajolotes pertenecen a la especie *Ambystoma*

mexicanum, aunque este término se ha extendido a los ejemplares neoténicos de otras especies como:

- A. andersoni* - Lago Zacupa, Michoacán
- A. dumerilii* - Lago Patzcuaro, Michoacán
- A. mexicanum* - Lago Xochimilco, Valle de México
- A. taylori* - Lago Alchichica, Puebla
- A. tigrinum* - Lagos del este de Puebla

Clasificación de *Ambystoma tigrinum* (Green, 1825)

Reino: Animalia

Phylum: Chordata

Subphylum: Vertebrata

Clase: Amphibia

Subclase: Lepospondyli

Orden: Caudata

Suborden: Ambystomatidae

Familia: Ambystomatidae

Género: *Ambystoma*

Especie: *tigrinum*

Nombre común: Salamandra tigre

TSN: 173592

Sinónimos:

Ambystoma mavortia

Ambystoma nebulosum

Salamandra tigrina



Figura 45. *Ambystoma tigrinum* (Neoténico) Audobon Society, 1979.

Especies en peligro: Los ajolotes son un grupo de especies que están en peligro de extinción en sus hábitats naturales (Lago de Xochimilco, Lago de Pátzcuaro y Lago de Chalco). Algunas especies pertenecientes a este grupo de organismos han sido protegidas por las leyes federales según el aviso del Diario Oficial de la Federación del 30 de abril de 1998.

México ha decretado protección especial para las siguientes especies de ajolotes:

Especies en peligro	
<i>Ambystoma amblycephalum</i>	<i>Ambystoma mexicanum</i>
<i>Ambystoma andersoni</i>	<i>Ambystoma ordinarium</i>
<i>Ambystoma bombypellum</i>	<i>Ambystoma rosaceum</i>
<i>Ambystoma dumenii</i>	<i>Ambystoma taylori</i>
<i>Ambystoma flavipiperatum</i>	<i>Ambystoma tigrinum</i>
<i>Ambystoma granulatum</i>	<i>Ambystoma velasci</i>
<i>Ambystoma lemaensis</i>	

Tabla 3. Especies de *Ambystoma* en peligro de extinción.

La glándula pineal: Se sabe que la glándula pineal de todos los vertebrados produce un mensajero químico indicador de oscuridad, la melatonina que está relacionada con las vías nerviosas que procesan la información lumínica. Hay evidencias de que la melatonina, a través del sistema hipotalámico-hipófisis participa en el control de los cambios gonadales inducidos por el fotoperiodo en varias especies de animales que poseen reproducción estacional.

Como en la glándula pineal de los vertebrados anamniotas (peces y anfibios) existen principalmente células fotorreceptoras, no se ha podido determinar si ellas son fotoneuroendócrinas o si además de ellas están presentes células secretoras semejantes a las de los mamíferos.

Varias investigaciones en la glándula pineal de vertebrados anamniotas han sugerido la coexistencia de varios tipos de células pineales; entre ellas, células de apariencia endócrina semejantes a las pineales de los mamíferos.

Objetivo:

Determinar los efectos del cambio de iluminación estacional (invierno-primavera) sobre la morfología de la glándula y células pineales en adultos neoténicos de la especie *Ambystoma tigrinum*.

Materiales y método:

Se colectaron 6 individuos adultos neoténicos de la especie *A. tigrinum* en la laguna de Totolcingo, Tlaxcala; tres durante la estación de invierno y tres durante la primavera.

Los organismos recién colectados se anestesiaron y sacrificaron por decapitación. Se extrajeron los encéfalos junto con la glándula pineal, estos fueron fijados, incluidos en parafina y se hicieron cortes parasagitales de 5 μm . Se tiñeron mediante la técnica de Acido peryódico-reactivo de Schiff (PAS) para identificar la glándula pineal y las células secretoras.

Los cortes fueron observados y fotografiados con un fotomicroscopio Zeiss II. Las fotomicrografías fueron capturadas mediante un escáner Polaroid SprintScan 35.

Las imágenes originales fueron capturadas en formato JPG (Joint Professional Graphics Expert Group) con un rango dinámico de 2^{24} , es decir 16.5 millones de colores.

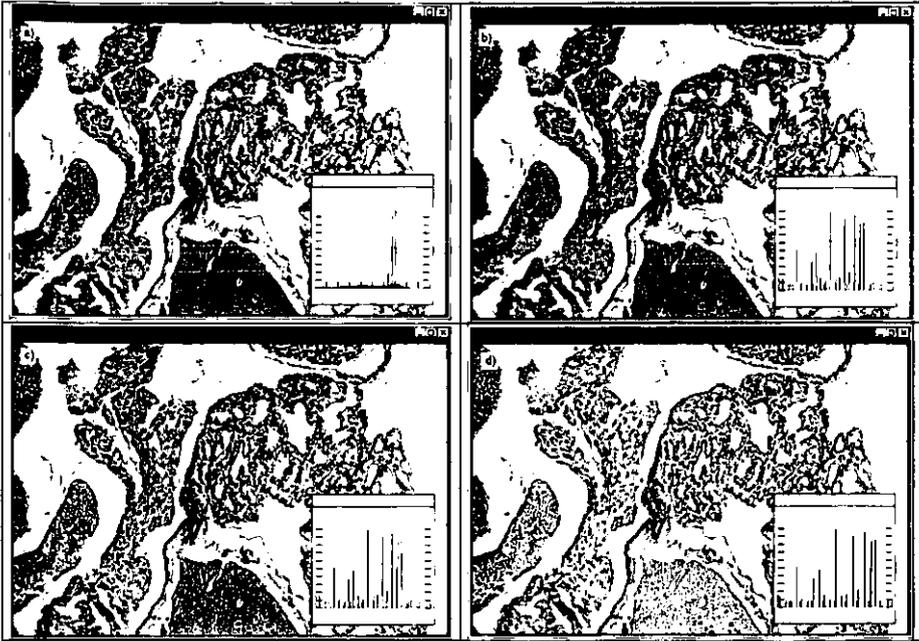


Figura 46. Glándula pineal. a) 692X469X16 16.5 millones de colores b) 692X469 256 colores c) 692X469 256 tonos de gris d) 692X469 256 tonos de gris optimizada.

Las imágenes fueron convertidas a 256 niveles de gris mediante la técnica de reducción de colores (Figura 46c), así mismo se efectuó una transformación radiométrica mediante la manipulación del histograma de niveles de gris (Figura 46d) dicha transformación permitió el aprovechamiento óptimo del rango dinámico mediante la normalización del histograma a cada imagen.

Se efectuó el procedimiento para identificar los bordes de los objetos de interés en este caso el contorno del cuerpo glandular mediante la técnica de segmentación de la imagen (Figura 47), lo cual permitió identificar los valores del rango dinámico que incluyeran los bordes del cuerpo glandular.



Figura 47. a) Glándula pineal 692X469 256 tonos de gris optimizada b) 692X469 ensayo de segmentación

Adicionalmente se efectuó una corrección respecto del área máxima y mínima a identificar, la cual fue ubicada empíricamente entre el rango de 74 a 10000 unidades de imagen, lo anterior permitió tener un criterio adicional de exclusión para la detección de objetos (glándula y células secretoras y núcleos).

Posteriormente se procedió a la detección e identificación del contorno mediante la detección de bordes con lo cual se obtuvieron los trazos de línea que describen los contornos de los objetos de interés (Figura 48).

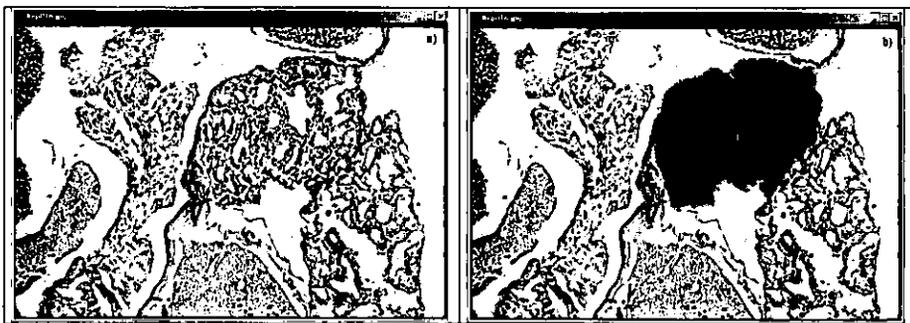


Figura 48. a) Glándula pineal 692X469 256 tonos de gris optimizada b) 692X469 ensayo de segmentación

Una vez obtenidos los contornos, se procedió a la verificación y depuración de los contornos respecto de las observaciones efectuadas directamente en el microscopio con el propósito de contrastar la detección

de los objetos. Algunos contornos fueron marcados como un polígono sobre la imagen a fin de resaltar el objeto identificado (glándula y células secretoras y núcleos) (Figura 49 a 50).

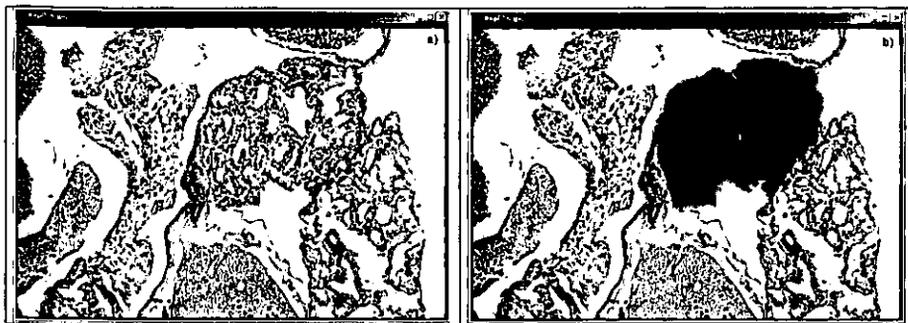


Figura 49. a) Glándula pineal 692X469 256 tonos de gris optimizada b) 692X469 ensayo de segmentación

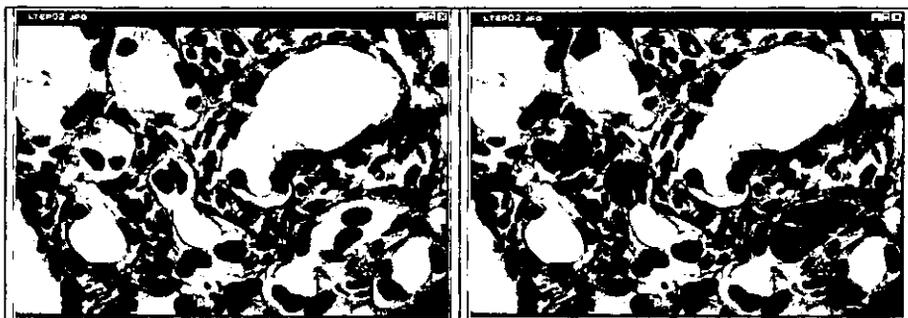


Figura 50. a) Células secretoras 692X469 256 tonos de gris optimizada b) 692X469 ensayo de segmentación

Finalmente se procedió a la cuantificación por píxeles de cada uno de los objetos identificados.

Resultados:

Se encontró que la glándula pineal de *A. tigrinum* presenta en su porción proximal células secretoras que dan reacción positiva a la técnica de PAS. El número y el tamaño de dichas células aumentan en la primavera en relación con el aumento del fotoperiodo. Como un resultado de dicho aumento, la glándula en su conjunto es mayor en la primavera respecto al invierno.

Los parámetros morfométricos utilizados fueron: Área, diámetro mayor, diámetro menor, diámetro promedio y perímetro. Estos parámetros fueron considerados para cada uno de los objetos: glándulas, células secretoras y núcleos.

Como ejemplo de estos resultados tenemos:

Glándulas Neoténico de Primavera.

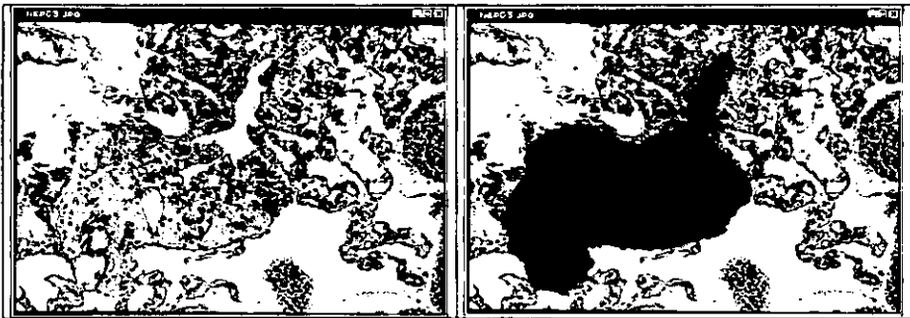


Figura 51. a) Glándula pineal. Neoténico primavera 692X469 256 tonos de gris optimizada b) 692X469 ensayo de segmentación

Neoténico de Primavera	Área	Diámetro mayor	Diámetro menor	Diámetro promedio	Perímetro
	75179	479.30	167.53	296.45	1349

Tabla 4. Datos morfométricos. Glándula pineal. Neoténico de primavera.

Glándulas Neotónico de Invierno.



Figura 52. a) Glándula pineal. Neotónico invierno 692X469 256 tonos de gris optimizada b) 692X469 ensayo de segmentación

Neotónico de Invierno	Area	Diámetro mayor	Diámetro menor	Diámetro promedio	Perímetro
	35532	295.76	147.25	204.48	769

Tabla 5. Datos morfométricos. Glándula pineal. Neotónico de invierno.

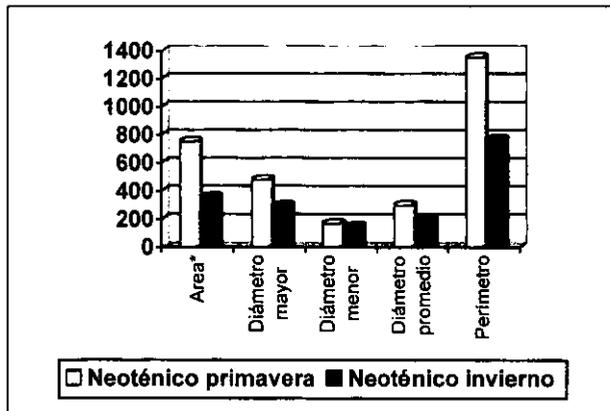


Figura 53. Comparativo de los datos morfométricos de la glándula pineal. *Area x 10³

Células Neoténico de Primavera.

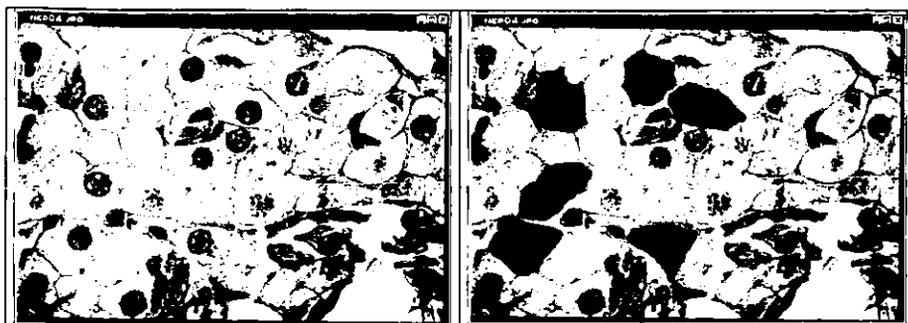


Figura 54. a) Células secretoras. Neoténico primavera 692X469 256 tonos de gris optimizada b) 692X469 ensayo de segmentación

Neoténico de Primavera	Area	Diámetro mayor	Diámetro menor	Diámetro promedio	Perímetro
	5570.00	89.31	77.17	82.98	258.00
	6624.00	105.34	72.73	89.88	336.00
	6329.00	127.01	60.04	86.91	294.00
	6830.00	127.65	57.70	88.92	305.00
	6632.00	114.10	77.88	89.94	281.00
	5270.00	103.49	59.15	78.39	275.00
Promedio	6209.17	111.15	67.45	86.17	291.50

Tabla 6. Datos morfométricos. Células. Neoténico de primavera.

Células Neoténico de Invierno.

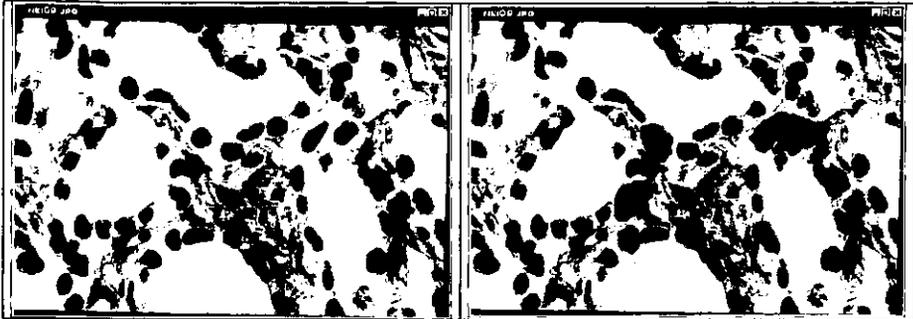


Figura 55. a) Células secretoras. Neoténico de invierno 692X469 256 tonos de gris optimizada b) 692X469 ensayo de segmentación

Neoténico de Invierno	Area	Diámetro mayor	Diámetro menor	Diámetro promedio	Perímetro
	2412.00	74.77	37.68	53.73	176.00
	2257.00	64.63	41.73	52.30	171.00
	2922.00	77.92	45.22	59.57	188.00
	1860.00	57.00	38.62	48.02	147.00
	1468.00	58.08	29.01	42.64	139.00
	1303.00	45.30	33.17	39.55	119.00
Promedio	2037.00	62.95	37.57	49.30	156.67

Tabla 7. Datos morfométricos. Células. Neoténico de invierno.

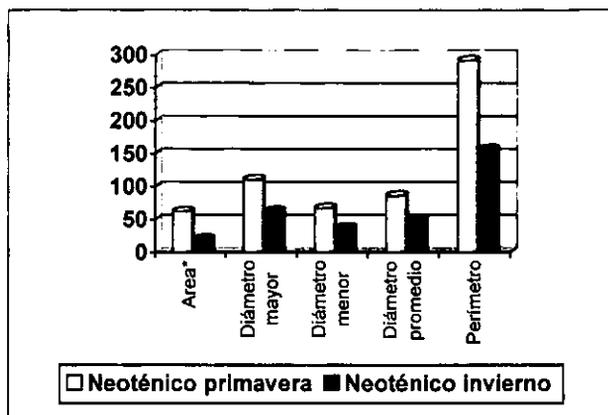


Figura 56. Comparativo de datos morfométricos promedio de células secretoras. *Area x 10²

Núcleos Neoténico de Primavera.

Neoténico de Primavera	Area	Diámetro mayor	Diámetro menor	Diámetro promedio	Perímetro
	1294.00	42.85	35.88	39.55	122.00
	1384.00	43.29	38.70	41.20	128.00
	1292.00	43.26	36.39	39.78	114.00
	1402.00	46.35	37.79	41.39	120.00
	1118.00	41.17	34.17	36.92	111.00
	1335.00	44.59	37.03	40.41	120.00
Promedio	1304.17	43.59	36.66	39.88	119.17

Tabla 8. Datos morfométricos. Núcleos. Neoténico de primavera.

Núcleos Neoténico de Invierno.

Neoténico de Invierno	Area	Diámetro mayor	Diámetro menor	Diámetro promedio	Perímetro
	1081.00	44.47	28.52	36.58	112.00
	851.00	34.71	27.40	32.26	93.00
	941.00	38.39	23.72	33.12	107.00
	923.00	42.86	26.56	33.36	102.00
	691.00	43.39	17.52	30.61	94.00
	705.00	35.31	23.19	28.89	89.00
Promedio	865.33	39.85	24.48	32.47	99.50

Tabla 9. Datos morfométricos. Núcleos. Neoténico de invierno.

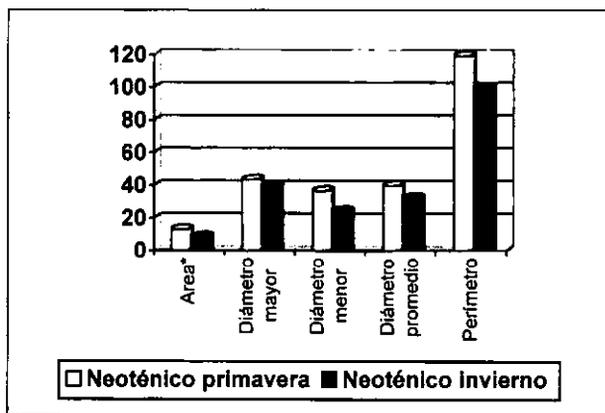


Figura 57. Comparativo de datos morfométricos promedio de los núcleos de células secretoras.

*Area x 10²

Las comparaciones morfológica y morfométrica de la glándula pineal durante la primavera y el invierno arrojan los siguientes resultados:

La glándula pineal del organismo adulto neoténico de *A. tigrinum* presenta células endócrinas en la parte proximal de la glándula evidenciadas mediante la técnica de PAS.

El alargamiento del fotoperíodo produce en la primavera respecto al invierno.

- a) Aumento en el número de células secretoras
- b) Aumento en el tamaño de las células secretoras
- c) Aumento en la actividad de las células secretoras, evidenciado por la técnica de PAS
- d) Aumento en el tamaño total de la glándula.

Conclusiones.

- a) Aumento en el número de células secretoras.

Para determinar este aumento se considero la densidad celular en ambas condiciones, obteniéndose en un área de 0.44mm^2 para la primavera una densidad de 45.4 y para el invierno de 15.9

- b) Aumento del tamaño de las células secretoras.

Considerando los parámetros morfométricos medidos, las células secretoras durante la primavera son 67% mayores en área, 43% en diámetro promedio y 46% en perímetro.

- c) Aumento en la actividad de las células secretoras.

La actividad de las células secretoras se determinó tanto por parámetros cualitativos como por parámetros cuantitativos. Desde el punto de vista cualitativo, las células secretoras durante la primavera mostraron una reacción más intensa con la técnica de PAS, además de mostrar abundantes gránulos de secreción y vacuolas en su citoplasma. Desde el punto de vista cuantitativo el aumento en todos los parámetros medidos incluyendo el tamaño del núcleo es indicativo de actividad secretora. El núcleo mostró aumentos del 33% en al área y del 18% en el diámetro promedio.

- d) Aumento en el tamaño de la glándula pineal.

Como resultado del aumento en la actividad secretora de las células la glándula muestra un aumento global en su tamaño, siendo mayor en 53% en el área, 43% en el perímetro y 31% en el diámetro promedio.

Los parámetros morfométricos son indispensables en la actualidad para valorar los resultados morfológicos. Como se vió en el ejemplo de aplicación, en el se mostró que el procesamiento digital de imágenes y la selección adecuada de los objetos y parámetros que se han de analizar, son herramientas que los expertos morfológicos deben incluir en sus investigaciones, para lo cual se requiere también de ser posible, que el número de ejemplares analizados sea representativo de una población para poder aplicar un análisis estadístico y determinar si las diferencias encontradas son significativas.

8 DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES.

Recientemente el uso del procesamiento de imagen ha cobrado gran importancia y auge a partir del uso inicial en la percepción remota a principios de los años setenta con el lanzamiento del satélite Skylab en 1973 (Lira, J., 1987), sin embargo dada la gran versatilidad de este tipo de técnicas cada día son más utilizadas en otras disciplinas, en las cuales han tenido gran importancia científica y económica.

La aplicación del procesamiento digital de imagen en neurociencias no ha tenido un avance relevante, sin embargo con la aplicación de la tomografía computarizada, la tomografía por emisión de positrones y la resonancia magnética nuclear a mediados de los años 70 se abren grandes perspectivas en el estudio de la función y estructura cerebral, al permitir efectuar valoraciones morfológicas y metabólicas del sistema nervioso (Mc Kanna, J. A., 1985; O Handley, D. A. 1972).

La manipulación de los parámetros de contraste, así como la aplicación de las técnicas de color entre otros, permite una mejoría de primera mano en la interpretación de las imágenes radiológicas en el diagnóstico clínico. Los análisis a las imágenes biomédicas en la actualidad son relativamente complejos y su uso está restringido a los grupos de investigación. Dentro de estos análisis tenemos: mejoramiento, mapeo en los niveles de gris, análisis espectral, interpretación automática, reconstrucción tridimensional, entre otros.

El Procesamiento Digital de Imágenes (PDI) aplicado a las ciencias naturales de manera rutinaria y consecutiva necesariamente conduce a la formación y especialización de nuevos recursos humanos. Así mismo, permite el empleo e integración de nuevos recursos técnicos y científicos para la resolución de un problema particular. Por otro lado, la interacción multidisciplinaria que conlleva el uso de técnicas computacionales trae como consecuencia el abordaje de un problema desde diversos puntos de vista y criterios profesionales.

El PDI como herramienta para el análisis y la extracción de información en imágenes biológicas es una de las áreas de la técnica que recientemente ha tenido un gran avance y desarrollo permitiéndole al

especialista de la bioimagen contar con herramientas cada vez más completas y fáciles en su uso.

Debido al reciente incremento en la capacidad de análisis computacional, se prevé un vertiginoso desarrollo en los equipos y técnicas dedicadas al análisis de la bioimagen, por lo cual resulta importante que los profesionales dedicados a la biología participen de manera activa como parte integrante de este desarrollo, ya que son precisamente ellos los que podrán dirigir el desarrollo y aplicación de nuevas técnicas dentro del procesamiento digital de imágenes.

9 BIBLIOGRAFIA.

Baxes, G.A., *Digital image processing: Principles and applications*, USA, J. Wiley, 1994.

Billingsley, F. C., Digital image processing for information extraction, *Int. J. Machine Perception of Patterns and Pictures, Inst. Physics*, 337-362, 1972.

Buchsbaum, M.S., Brain imaging techniques for diagnosis and drugs against schizophrenia. *Drug Development Research*. 9, 53-62, 1986.

Castleman, K.R. *Digital image processing*, USA, Prentice-Hall, 1979.

Chochia, P.A., Image enhancement using sliding histograms. *Computer Vision, Graphics, and Image Processing*, 44, 211- 229, 1988.

Churchil, P., 3D objects reconstructed from serial sections, *Journal of Neuroscience Methods*, 11, 205-210, 1989.

Corkidi, G., Garza, M, Gonsebatt, M A., Marquez, J. A., Montero, R., Ostrosky, P., Toledo, R. y Usisima, R.; El procesamiento digital de imágenes biomedicas, *Ciencia y desarrollo XVII* (97), 96-112, 1991.

Garza, M., Ostrosky P. y Rodríguez, C., Reconocimiento de patrones aplicado a genética. *Curso-Taller: Procesamiento digital de imagen y visión*, U.N.A.M. México (Memorias), 1989.

González, R.C. and Wintz, P., *Digital image processing*, USA, Addison-Wesley, 1977.

González, R. C. and Woods, R. E., *Digital image processing*, Addison-Wesley, USA, 1992.

Goochee, C., Rasband, W. and Sokoloff, L., Application of computer-assisted image processing to auto radiographic methods for studying brain functions. *Trends in Neuro Sciences*, **6**, 256- 260, 1983.

Haug, H., History of neuromorphometry. *Journal of Neuroscience Methods*, **18**, 1-17, 1986.

Hertz, L. and Schafer, W. R., Multilevel thresholding using edge matching. *Computer Vision, Graphics, and Image Processing*, **44**, 279-295, 1988.

Hecht, E. And Zajac A., Optics. Adison-Wesley Pub. Co., USA, 1974.

Jähne B., *Digital Image Precessing: Concepts, algorithms, and scientific applications*, Germany, Springer-Verlag, 1991.

Jain, A.K. *Fundamentals of Digital Image Processing*, USA, Prentice Hall, 1989.

Levin, C., Your dream PC 2005. PC magazine **14**:14, 29, 1995.

Levin, N., Pelizzari, C., Retrospective geometric correlation of MR, CT, and PET images. *Radiology*. **169**:817-823, 1988.

Levin, N., Hu X., Kiat, K.T. and Galhotra, S., Surface of the brain: Three-dimensional MR images created with volume rendering, *Radiology*, **171**:277-280, 1989a.

Levin, N., Hu X., Tan, K.K. and Galhotra, S., The brain: Integrated Three-dimensional display of MR and PET images, *Radiology*. **172**:783-789, 1989b.

Levinthal, C., and Warw, R., Three dimensional reconstruction from serial sections. *Nature*, **236**, 207-210, 1972.

Lira, J. *La percepcion remota: nuestros ojos desde el espacio*, México, Fondo de cultura económica, 1987.

Mc Kanna, J.A., Micros applied to neuroanatomy: Computer-aided morphometry. In Kerkut, G.A., "*Microcomputers in the neurosciences*", Great Britain, Oxford Univ. Press, pp. 153-195, 1985.

Mckinlay, A. F., Harlen, F. and Whillock, M. J., Hazardous of optical radiation. A guide to sources, uses and safety. Adam Hilger, USA, 1985.

Media Cybernetics, Image Pro-Plus Reference Guide,, pp. A10-A16, 1992.

O'Handley, D. A., Green, W.B. Recent developments in digital image processing at the Image Processing Laboratory at Jet Propulsion Laboratory, *Proc. IEEE.*, **60**, 821-828, 1972.

Podo, F., Orr, J.S. and Bovée, M.J., Magnetic Resonance Spectroscopy I (Tissue characterization by MRI and MRS: an international and multidisciplinary research program). *IEEE ENGINEERING IN MEDICINE & BIOLOGY SOCIETY 10TH ANNUAL INTERNATIONAL CONFERENCE*, 1988.

Prat, W.K., *Digital image processing*, USA, Wiley, 1978.

Preston, K., The need for standards in image processing. *Nature*, **333**, 611-612, 1988

Rakic, P., Stensas, J.L., Sayre, P.E. and Sidman, L.R., Computer-aided three-dimensional reconstruction and quantitative analysis of cells from serial electron microscopic montages of fetal monkey brain. *Nature*, **250**, 31-34, 1974.

Reader, R.C., Hubble, L., Trends in image display systems. *Proc. IEEE*, **69**, 606-614, 1981.

Schalkoff, R.J., *Digital Image Processing and Computer Vision*, Canada, John Wiley & Sons, Inc., 1989.

Schowengerdt, R. A., *Techniques for image processing and classification in remote sensing*, USA, Academic press, 1983.

Stein, A., Juliano, S., Krap, P. and Hand, P., Computer-assisted three-dimensional reconstruction of auto radiographic images of the cerebral cortex. *Journal of Neuroscience Methods*, **10**, 189-197, 1984.

Struve, W. S., *Fundamental of molecular spectroscopy*, John Willey & Sons, Inc. USA, 1989.

Tanaka, Y., Hazama, H., Kawahara, R. and Kobayashi, K., Computerized tomography of the brain in schizophrenic patients, *Acta Psychiatrica Scand*, 1989.

Teuber, J., *Digital image processing*, Printice Hall, United King, 1993.

Toga, W.A. and Arnicar-Sulze, L.T., Digital reconstruction for the study of brain structure and function, *Journal of Neuroscience Methods*, **20**, 7-21, 1987.

Willis, H. A., Van der Maas, J. H. and Miller, R. G., *Laboratory methods in vibrational spectroscopy*, John Willey & Sons, Inc., Grats Britain, 1987.

Wilson, J., Three-dimensional analysis of neuronal geometry using HVEM, *Journal of Electron Microscopy Technique*, **6**, 175-183, 1987.

Xu, B.S. and Lu, X.W., Surface reconstruction of 3D objects in computerized tomography, *Computer Vision, Graphics, and Image Processing*, **44**, 270-278 1988.

10 Compendio de imágenes

- 1 Espectro electromagnético
- 2 Relación escena-imagen
- 3^a Fractint V 19.2 Conjunto de Mandelbrot clásico, $z_{(n+1)}=z_{(n)}^2+c$ ($z_{(0)}=c$)
- 3b Imagen de Televisión, (398x308) Televisión Azteca, 1996
- 3c IRMN (imagen de resonancia magnética nuclear) Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, México.
- 3d Imagen de Satélite^{www} 17-Jul-1996 2:45 PM. Weathernews Inc.
<http://www.wni.com/yahoo/cacr.html>
- 3e Imagen de Microscopia Electrónica^{www} Polen de Maíz *Sea mais*
Departament of Electrical and Computer Engineering and Applied Sciences,
State University of New York, Buffalo.
<http://128.205.21.24>
- 4 Formación de la imagen digital. Lira, J. *La percepcion remota: nuestros ojos desde el espacio*, México, Fondo de cultura económica, 1987.
- 5a-5f Mona Lisa^{www}, Leonardo Da Vinci 1505, Museo Le Louvre, Francia.
http://www.atlcom.net/~psmith/Louvre/Louvre_art.html
- 6a-6g Mona Lisa^{www}, Leonardo Da Vinci 1505, Museo Le Louvre, Francia.
http://www.atlcom.net/~psmith/Louvre/Louvre_art.html
- Mona Lisa^{www}, Leonardo Da Vinci 1505, Museo Le Louvre, Francia.
http://www.atlcom.net/~psmith/Louvre/Louvre_art.html
- 7a-7c Mona Lisa^{www}, Leonardo Da Vinci 1505, Museo Le Louvre, Francia.
http://www.atlcom.net/~psmith/Louvre/Louvre_art.html
- 8a Imagen de satélite SAR^{www} IDL Research Systems
<http://www.rsinc.com/gallery/index.cfm>
- 8b Gamagrafía^{www} Comparación de dos gamagrafías, Dr. Georges Dupras, MD,
y Raffi Kayayan, Ph.D Hôtel Dieu de St-Jérôme Québec, Canada, PARK
MEDICAL SYSTEMS Inc.
<http://www.parkmed.com/images.html>
- 8c. La panza, John Howard W., 1994
<Http://www.slonet.org/~jwhit/lapanza.html>
- 8d Meteosat^{www}, Imagen meteorológica de infrarrojo del 23/Oct/95, hemisferio
occidental. Lund Observatory, Suecia.
<http://nastol.astro.lu.se/Html/weather.html>.
- 8e The full Moon^{www}, Eclipse lunar, diciembre 10 de 1992. G.R. Gladstone,
J.S. McDonald, W.T. Boyd, and S. Bowyer (1993). UC Berkeley Center for

- Extreme Ultraviolet Astrophysics.
<http://www.cea.berkeley.edu/Archive/ArchiveHomePage.html>
- 8f Rayos X, Instituto Mexicano del Seguro Social, Estudio para
 Rinoseptumplastía, 1989, México
- 9 Diagrama, sistema de procesamiento digital de imágenes
- 10 Sistema visual biológico^{www}. Anatomía del ojo.
<http://www.eyenet.org/>
- 11 Sistema de captura de imágenes
- 12a-12c MediaCy^{www}, Media Cybernetics
<http://www.mediacy.com/>
- 13a-13c MediaCy^{www}, Media Cybernetics
<http://www.mediacy.com/>
- 14 Operadores puntuales
- 15a-15d Radiografía de torax
- 16 Transformación lineal del histograma
- 17a-17c Resonancia magnética nuclear de craneo, corte sagital.
- 18 Radiografía de torax
- 19 Vena Porta^{www} Angiografía por sustracción digital. Kouji Morimoto,
 Department of Medical Informatics, Shimane Medical University Japón.
<http://www.shimane-med.ac.jp/IMAGE/MRA.HTM>
- 20 Operadores espaciales
- 21 Operadores espaciales
- 22a-22b Hormiga^{www}. Scanning Electron Microscopy. Materials Science and
 Engineering Dept. Iowa State University.
<Http://surf.eng.iastate.edu/~karie/SEM.html>
- 23 Filtro de media
- 24 Coeficientes para un filtro especial
- 25a-25b MediaCy^{www}, Media Cybernetics
<http://www.mediacy.com/>
- 26a-26b Células sanguíneas. MediaCy^{www}, Media Cybernetics
<http://www.mediacy.com/>
- 27a-27b Semiconductor^{www}. Scanning Electron Microscopy. Materials Science and
 Engineering Dept. Iowa State University.
<Http://surf.eng.iastate.edu/~karie/SEM.html>
- 28 Filtro direccional
- 29a-29b Bacilos
- 30 Filtro de gradiente
 Filtro de gradiente

- 32 Filamentos germinales de trigo
- 33 Filtro de Sobel
- 34a-34d Bahía de San Francisco^{www}. Rita Pittigrew, BADGER, NASA
<http://rsd.gsfc.nasa.gov/rsd/images/SFbay.html/>
- 35a-35b Dendritas^{www} Scanning Electron Microscopy. Materials Science and Engineering Dept. Iowa State University.
<Http://surf.eng.iastate.edu/~karie/SEM.html>
- 36a-36b Autorradiografía^{www}. Termo sequenasa y ³³P y ³⁵S. Kodak Bio Max MS
<http://www.amersham.co.uk/life/lisn/19/pages/p18-full.htm>
- 37a-37b Glándula pineal. Laboratorio de Histología, Facultad de Ciencias, UNAM
- 38 Planeación Ortopédica^{www} Dr. Luc Bidaut, Ph.D., University Hospital Cantonal Geneva, Switzerland.
<http://expasy.hcuge.ch/www/UIN/LuBmdms.html>
- 39 Glándula pineal. Laboratorio de Histología, Facultad de Ciencias, UNAM
- 40 *Penicillium sp*^{www} Confocal Electron Microscopy
<http://www.pbrc.hawaii.edu/~kunkel/gallery/>
- 41 Rayos X, Instituto Mexicano del seguro social, Estudio para Rinoseptumplastia, 1989, México
- 42 Vena Porta^{www} Angiografía por sustracción digital. Kouji Morimoto,. Department of Medical Informatics, Shimane Medical University Japón.
<http://www.shimane-med.ac.jp/IMAGE/MRA.HTM>
- 43 Tomografía Axial Computada^{www}. Department of Nuclear Medicine. Universitu of Buffalo.
<http://www.nucmed.buffalo.edu/>
- 44 Resonancia magnética nuclear. Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, México.
- 45 *Ambystoma tigrinum* (Neoténico)^{www}. Axolotls - Care Guide for the Mexican Salamander!
[http://www.geocities.com/Yosemite/4301/calixto.htm /](http://www.geocities.com/Yosemite/4301/calixto.htm/)
- 46a-46-b Glándula pineal de *A. tigrinum*.
- 47a-47-b Glándula pineal de *A. tigrinum*.
- 48a-48-b Glándula pineal de *A. tigrinum*.
- 49a-49-b Glándula pineal de *A. tigrinum*.
- 50a-50-b Células secretoras. Glándula pineal de *A. tigrinum*.
- 51a-51-b Glándula pineal de *A. tigrinum*. Neoténico de primavera.
- 52a-52-b Glándula pineal de *A. tigrinum*. Neoténico de invierno.

- 53 Datos morfométricos. Glándula pineal de *A. tigrinum*.
- 54a-54-b Células secretoras. Glándula pineal de *A. tigrinum*. Neoténico de primavera.
- 55a-55-b Células secretoras. Glándula pineal de *A. tigrinum*. Neoténico de invierno.
- 56 Datos morfométricos. Células secretoras. Glándula pineal de *A. tigrinum*.
- 57 Datos morfométricos. Núcleos. Glándula pineal de *A. tigrinum*.