

UTILIZACIÓN DE MOMENTOS ESTADÍSTICOS Y REDES NEURONALES EN LA CLASIFICACIÓN DE CABEZAS DE ESPERMATOZOIDES DE VERRACO

Enrique Alegre Gutiérrez

Dpto. de Ingeniería Eléctrica y Electrónica. Universidad de León
dieag@unileon.es

Lidia Sánchez González

Dpto. de Ingeniería Eléctrica y Electrónica. Universidad de León
dielsg@unileon.es

Rocío Alaiz Rodríguez

Dpto. de Ingeniería Eléctrica y Electrónica. Universidad de León
dierar@unileon.es

J. Carlos Domínguez-Fernández Tejerina

Departamento de Sanidad Animal (Reproducción y Obstetricia)
dsajdf@unileon.es

Resumen

En este trabajo se pretende diseñar un sistema automático para determinar la calidad del semen de verraco a partir de una caracterización de las cabezas del mismo. Para ello se han utilizado dos tipos de descriptores de imagen, ambos basados en momentos estadísticos, para caracterizar cabezas de espermatozoides de semen de verraco. Se ha preprocesado las imágenes transformándolas su modo de color y aplicándolas operaciones morfológicas. La segmentación se realizó mediante una umbralización por el método de Otsu y una posterior binarización. Se eliminaron las regiones menores del 45 % de la media, obteniendo este valor experimentalmente. Se calcularon los 7 momentos de Hu y 16 momentos de Zernike para cada una de las cabezas. La etapa de clasificación se llevó a cabo con una red neuronal basada en una arquitectura de perceptrón multicapa con funciones de activación sigmoidales. Las pruebas experimentales realizadas ponen de manifiesto que los descriptores de Hu constituyen características más relevantes para el problema de clasificación del semen logrando un mejor equilibrio entre la especificidad y sensibilidad del clasificador.

Palabras Clave: Descriptores estadísticos, Hu, Zernike, redes neuronales, semen de verraco.

1. INTRODUCCIÓN

La utilización del procesamiento digital de imágenes en el diagnóstico a partir de imágenes médicas es un campo en el que se empezó a trabajar a finales de los años ochenta y que está permitiendo realizar

interesantes avances en ambas disciplinas. La alta precisión del análisis digital y la posibilidad de obtener nuevas descripciones cuantitativas de la composición y estructura de órganos, organismos o tejidos están permitiendo a los investigadores mejorar las técnicas de clasificación, de diagnóstico o la detección precoz de enfermedades. Una de estas aplicaciones es la valoración de la calidad seminal, ya sea con fines terapéuticos o, como es el caso de este trabajo, para seleccionar individuos con alta capacidad fecundante.

El análisis seminal asistido por computador es un campo en el que se trabaja desde hace varios años, pero que recientemente está siendo objeto de mayor actividad.

Verstegen y sus colegas [1] realizaron una revisión de las publicaciones en las que se utiliza el análisis seminal asistido por computador, proporcionando datos relacionados con los artículos aparecidos en Medline. Se puede señalar, a modo de ejemplo, que en 1990 se realizaron 21 publicaciones de este tipo, estando 16 de ellas relacionadas con medicina humana y 5 con medicina veterinaria; en 1999, del total de 49 publicaciones, 33 eran sobre humana y 16 sobre veterinaria; y en el año 2001, de las 27 publicaciones, 9 fueron sobre humana y 18 sobre veterinaria. La mayoría de los trabajos presentan los resultados obtenidos al analizar el semen de una especie animal utilizando alguno de los diversos sistemas comerciales [2, 3, 4, 5] o en otros casos una revisión comentando las virtudes de estos sistemas [1].

En relación con los sistemas comerciales, la mayoría de ellos basan su análisis en el estudio, habitualmente

excluyente, de las formas anormales o de la motilidad. Algunos sistemas, como el Hobson Tracking y el Mika Medical, realizan únicamente mediciones de motilidad mientras que otros, como el Cell-Morf de Motion Analysis, se basan en las morfoanomalías. Pocos son los que realizan medidas de morfología y motilidad. El ejemplo más conocido a nivel mundial de este tipo de sistemas es el Hamilton-Thorn, siendo también uno de los más completos, ya que realiza mediciones de motilidad y morfología, y más específicos, al tener un módulo concreto para semen de cerdo. Otro sistema destacado es el SCA, comercializado por la empresa española Microptic, que presenta esas dos destacadas virtudes comentadas del Hamilton.

Es en las medidas morfológicas donde existe una mayor diferencia entre los sistemas existentes. Todos ellos se basan en medidas geométricas sencillas que permiten diferenciar el acrosoma normal del anormal. El Hamilton-Thorn (salvo el Ultimate) y Motion Analysis obtienen la elongación y el área, longitud, anchura y perímetro de la cabeza. El único sistema que tiene en cuenta las formas anormales de las colas es la versión Ultimate del Hamilton-Thorn que detecta gotas, tanto distales como proximales, y colas en forma de ovillo y látigo.

El sistema que ofrece un mayor número de medidas de forma, considerando tanto el acrosoma como la pieza intermedia es el español Sperm Class Analyzer de Microptic, proporcionando diversas medidas de tamaño y forma de la cabeza y la pieza intermedia así como información de la distancia y el ángulo de inserción de esta pieza intermedia.

Como resumen deseamos resaltar algunos aspectos. En primer lugar indicar que los sistemas existentes están diseñados pensando principalmente en una especie, la humana, siendo habitual que no estén adaptados a otras o que esa adaptación se realice en cuanto a las medidas que se evalúan sobre los espermatozoides de humana. En segundo lugar, que suelen realizar y por tanto tener en cuenta medidas parciales. Y finalmente, que las medidas morfológicas que se emplean son sencillos descriptores geométricos que no tienen en cuenta aspectos tan interesantes como la distribución de densidades, concepto relacionado con la distribución de texturas, ni emplean clasificadores robustos que combinando un conjunto de descriptores ofrezcan un buen resultado de asignación lo que, en este caso, equivale a un correcto diagnóstico.

En este trabajo se utilizaron dos descriptores para las cabezas de los espermatozoides de verraco, Hu y Zernike, basados en momentos estadísticos. La clasificación se realizó mediante una red neuronal.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 APLICACIÓN DESARROLLADA

Se ha desarrollado una aplicación utilizando Matlab y la toolbox de Procesamiento de Imágenes. Las imágenes utilizadas en los experimentos proceden de varias muestras de semen de verraco, capturadas por una cámara digital Nikon Coolpix 5000 acoplada a un microscopio Nikon Eclipse. Las imágenes utilizadas tienen todas el mismo formato, JPEG, con unas dimensiones de 1280×960. Todas han sido obtenidas utilizando una ampliación de 40 aumentos.

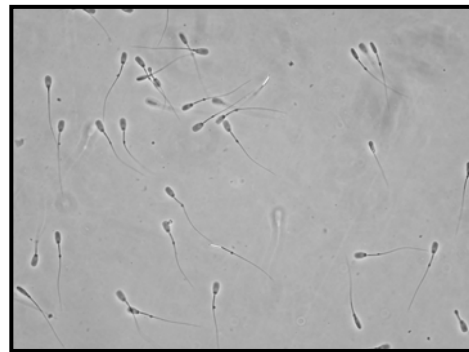


Figura 1. Imagen típica.

Cada imagen suele contener entre 25 y 40 espermatozoides. En la Figura 1 se puede observar el aspecto habitual de una de las imágenes con las que se ha trabajado.

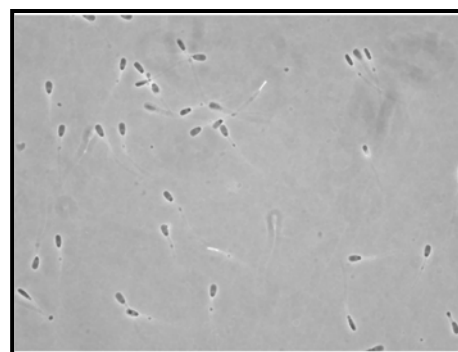


Figura 2. Resultado del preprocesado.

2.2 PREPROCESADO DE LA IMAGEN

En un primer paso se preprocesó la imagen para prepararla para las etapas posteriores.

Se convirtió la imagen original de formato JPEG en color real, en una imagen en escala de grises. Posteriormente se ha realizado un cerramiento morfológico mediante un elemento estructural circular de radio 4. Esta elección se debe a que los objetos que se desea extraer, las cabezas, son circulares. Con esta operación se suavizaron secciones de contornos, se eliminaron pequeños huecos y se rellenaron agujeros del contorno, realzando de este modo las cabezas frente al resto de la imagen. En la Figura 2 se puede ver el resultado del preprocesamiento de una imagen original.

2.3 SEGMENTACIÓN

Se aislaron las cabezas de los espermatozoides, eliminando tanto la cola como el resto de la imagen.

Se utilizó una segmentación basada en regiones. Se realizaron pruebas con diferentes técnicas utilizando finalmente una umbralización mediante el método de Otsu.

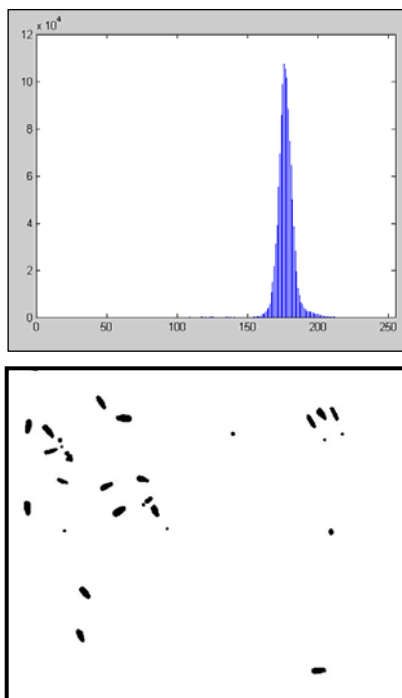


Figura 3. Histograma y binarización con $T=152$.

Una vez seleccionado el umbral se binarizó la imagen.

2.4 POSTPROCESADO

La imagen obtenida después de la umbralización tiene los objetos de interés en negro sobre fondo blanco. Se halla su negativo, objetos blancos sobre fondo negro, para posteriormente poder etiquetar las regiones correctamente. Puede verse el resultado en la Figura 4 superior.

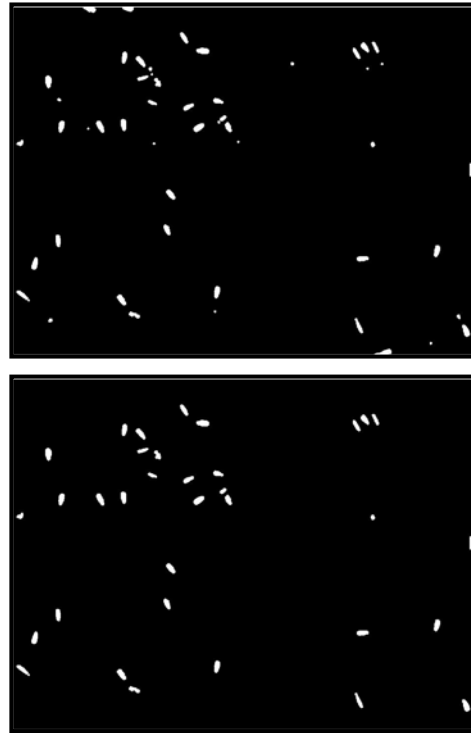


Figura 4. Negativo de la imagen (superior). Resultado postprocesado (inferior).

Seguidamente se eliminan los objetos que están próximos a los bordes de la imagen, debido a que no se dispone de información suficiente para obtener una correcta descripción de su morfología.

A continuación, empleando operaciones aritméticas se eliminan también las regiones de la imagen que son demasiado pequeñas. Experimentalmente se observaron buenos resultados al eliminar aquellas regiones con un área inferior al 45 % de la media de las áreas de todas las regiones. En la Figura 4 inferior se puede observar que no aparecen los objetos próximos a los bordes y las regiones más pequeñas.

Finalmente se obtiene una imagen en binario con las cabezas de los espermatozoides en blanco sobre fondo negro.

La etapa de segmentación devuelve dos imágenes diferentes. La primera la imagen binaria con las cabezas de los espermatozoides en blanco, Figura 4

inferior, y la segunda, Figura 5, otra nueva imagen en la que las cabezas conservan su textura original en escala de grises. Para obtener esta segunda imagen se ha realizado un producto de las dos anteriores. Sobre esta imagen es sobre la que se calcularán posteriormente los momentos estadísticos.

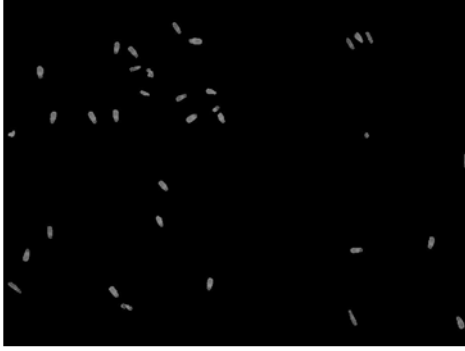


Figura 5. Cabezas en escala de grises.

2.4 DESCRIPTORES BASADOS EN MOMENTOS

Para caracterizar la cabeza de cada espermatozoide se utilizaron dos tipos de descriptores basados en momentos, los de Hu y los de Zernike

Para el cálculo de estos momentos es necesario introducir, en las funciones correspondientes, el rectángulo circunscrito (bounding box) de cada región, es decir, el rectángulo más pequeño que contiene la región. Como la imagen sobre la que se trabaja ha de conservar su textura y color original. Se trabaja con la imagen segmentada que conserva las cabezas en escala de grises, como en el ejemplo mostrado en la Figura 5.

2.4.1. Momentos de Hu

La geometría de una región plana se basa en el tamaño, la posición, la orientación y la forma. Todas estas medidas están relacionadas en los parámetros denominados momentos.

Mediante los momentos invariantes de Hu, se consigue una descripción independiente a las posiciones, tamaños y ángulos del objeto.

Cuando se desea obtener un descriptor invariante respecto del tamaño y de la posición se puede utilizar los momentos de Hu centrales normalizados de orden dos y tres.

Se han programado dos funciones en Matlab, una en la que se calcula los momentos centrales hasta orden 3, y otra en la que se calculan los 7 momentos de Hu.

Estas funciones, construidas a base de operaciones aritméticas, se basan en la siguiente formulación (1):

$$\begin{aligned}
 h_1 &= \eta_{20} + \eta_{02} \\
 h_2 &= (\eta_{20} + \eta_{02})^2 + 4\eta_{11}^2 \\
 h_3 &= (\eta_{30} + 3\eta_{12})^2 + (3\eta_{21} - \eta_{03})^2 \\
 h_4 &= (\eta_{30} + \eta_{12})^2 + (\eta_{21} + \eta_{03})^2 \\
 h_5 &= (\eta_{30} - 3\eta_{12})(\eta_{30} + \eta_{12})[(\eta_{30} + \eta_{12})^2 - 3(\eta_{21} + \eta_{03})^2] + \\
 &\quad (3\eta_{21} - \eta_{03})(\eta_{21} + \eta_{03})[3(\eta_{30} + \eta_{12})^2 - (\eta_{21} + \eta_{03})^2] \\
 h_6 &= (\eta_{20} - \eta_{02})[(\eta_{30} + \eta_{12})^2 - (\eta_{21} + \eta_{03})^2] + \\
 &\quad 4\eta_{11}(\eta_{30} + \eta_{12})(\eta_{21} + \eta_{03}) \\
 h_7 &= (3\eta_{21} - \eta_{03})(\eta_{30} + \eta_{12})[(\eta_{30} + \eta_{12})^2 - 3(\eta_{21} + \eta_{03})^2] + \\
 &\quad (3\eta_{12} - \eta_{30})(\eta_{21} + \eta_{03})[3(\eta_{30} + \eta_{12})^2 - (\eta_{21} + \eta_{03})^2]
 \end{aligned} \tag{1}$$

Al realizar estas operaciones se obtiene una matriz que contiene los 7 momentos invariantes de Hu para cada una de las regiones segmentadas anteriormente.

2.4.2. Momentos de Zernike

Los momentos de Zernike son momentos ortogonales, es decir, se forman usando una base ortogonal existente. La condición de ortogonalidad simplifica la reconstrucción de la función original a partir de la generada por los momentos.

Los momentos de Zernike complejos son construidos usando polinomios complejos los cuales forman una base ortogonal completa definida en el disco unidad $(x^2 + y^2) \leq 1$.

Los *momentos de Zernike complejos* son construidos usando polinomios complejos los cuales forman una base ortogonal completa definida en el disco unidad $(x^2 + y^2) \leq 1$. Estos son expresados como:

$$A_{mn} = \frac{m+1}{\pi} \int_{x,y} f(x,y)[V_{mn}(x,y)]^* dx dy \tag{2}$$

donde $x^2 + y^2 \leq 1$

$V_{mn}(x,y)$ son los polinomios de Zernike, $m = 0, 1, 2, \dots, \infty$, definen el orden; * denota el conjugado complejo; y "n" es un integrador (puede ser positivo o negativo) que describe una dependencia angular, o rotación, sujeto a las condiciones (Ec. 3):

$$m - |n| = \text{par y } |n| \leq m \tag{3}$$

Para el cálculo de los momentos de Zernike se ha utilizado la Pattern Recognition Toolbox desarrollada por Kui Yu Chang, de la Universidad de Texas [6]. La función principal se denomina "lans_zmoment", a

la que se le pasan dos variables, el bounding box de cada región en escala de grises, y los valores de m , (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6), que definen el orden. Los valores de n los omitimos, de esta forma calcula todas las posibles combinaciones entre m y n cumpliendo las condiciones expuestas en la ecuación 3.

Esta función nos devuelve tres variables: los momentos de Zernike de la región introducida, una matriz información sobre las combinaciones de m y n , y un vector de índices de la región que contienen el círculo unidad. Utilizamos la primera de estas variables para formar los descriptores de la región.

3. EXPERIMENTOS Y RESULTADOS

Los experimentos se realizaron con un conjunto de 40 imágenes. Se realizó inicialmente una clasificación supervisada mediante la cual se asignó cada cabeza de espermatozoide a tres posibles categorías: bien, mal y otros. La categoría “bien” corresponde a aquellos espermatozoides que están vivos y que, por lo tanto, presentan una correcta distribución en la cabeza del acrosoma y la pieza intermedia. La categoría “mal” corresponde a cabezas con el acrosoma desprendido, desprendiéndose o cabezas que presentan alguna malformación. La tercera categoría engloba las cabezas dudosas que no pueden asignarse con certeza a una de las otras dos categorías.

La obtención de los patrones se realiza mediante una clasificación supervisada por el usuario del programa, el cual debe conocer las morfologías y malformaciones posibles de las cabezas de los espermatozoides de verraco.

En la Figura 6 puede verse la parte de la aplicación en la que el experto asigna la cabeza a una de estas categorías.

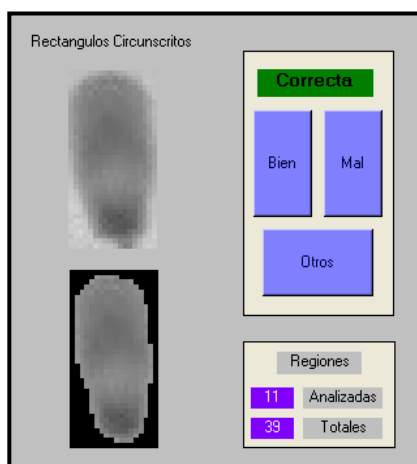


Figura 6. Clasificación supervisada.

Los resultados obtenidos para cada región son recolectados en una variable que finalmente contiene todas las regiones de todas las imágenes.

En la Tabla 1 se presenta un ejemplo de dichos resultados, viéndose los momentos de H_u para una cabeza.

Tabla 1. Momentos de H_u de una región de ejemplo.

Hu 1	0.44339
Hu 2	0.082782
Hu 3	0.0014865
Hu 4	0.0003429
Hu 5	2,45E-03
Hu 6	9,86E-01
Hu 7	-2,71E-05

Al indicar los valores de m de 0 a 6, obtenemos 16 combinaciones de m y n , consecuentemente obtenemos también 16 momentos de Zernike de cada región. En la Tabla 2 se muestran los momentos de Zernike obtenidos para una región que, al igual que con H_u , corresponde con una cabeza.

Como se puede observar en la dicha tabla, los momentos de Zernike son números complejos. Debido a esto, se calculó el valor absoluto, el real y el imaginario de cada momento.

Tabla 2. Momentos de Zernike

Zernike00	13285
Zernike11	620.9 + 5.4749i
Zernike20	-2935.7
Zernike22	-1198.1 + 1289.3i
Zernike31	-290.71 - 71.958i
Zernike33	-183.09 + 324.88i
Zernike40	-2849.8
Zernike42	31.102 + 235.84i
Zernike44	-1187.2 + 1026.8i
Zernike51	257.01 + 270.86i
Zernike53	-222.77 + 757.89i
Zernike55	-641.89 + 1462.3i
Zernike60	-3026.7
Zernike61	147.69 - 163.1i
Zernike64	-2122.7 - 566.89i

La clasificación se realizó con una red neuronal con arquitectura MLP (Multilayer Perceptron) con 10 neuronas en la capa oculta y función de activación de la salida sigmoïdal. El entrenamiento se ha realizado por minimización del error cuadrático medio durante 50 ciclos de entrenamiento. La evaluación del rendimiento del clasificador se llevó a cabo por validación cruzada.

Las primeras pruebas experimentales indican que los descriptores de Hu constituyen características más relevantes para el problema de decisión estudiado. No obstante, las diferencias no son muy significativas por lo resultaría conveniente el estudio del rendimiento ofrecido por un comité de clasificadores.

4. CONCLUSIONES Y TRABAJOS FUTUROS

La utilización de los momentos de Hu y de Zernike constituye una nueva forma de caracterizar las cabezas de los espermatozoides. Las pruebas experimentales realizadas indican que es factible utilizar estos tipos de descriptores si bien, los resultados obtenidos no indican de forma clara que uno de estos dos tipos de descriptores permita realizar una mejor caracterización de la región de interés, en este caso las cabezas de los espermatozoides de semen de verraco.

En futuros trabajos, se pretende ampliar el número de imágenes ejemplo utilizado para el entrenamiento del clasificador a la vez que se centrará la atención en el diseño de clasificadores cuando las clases presentes en los datos de entrenamiento están desequilibradas (muchos espermatozoides sin anomalías frente a pocos ejemplos de espermatozoides con malformaciones). Igualmente, presenta interés el estudio detallado para diferentes clasificadores de la relevancia de ambos tipos de descriptores.

Referencias

- [1] Verstegen, J., Iguer-Ouada, M., and Onclin, K. (2002). "Computer assisted semen analyzers in andrology research and veterinary practice", *Theriogenology*, 57, pp. 149-179.
- [2] Casey, P.J., Gravance, C.G, Davis, R.O., Chabot, D.D., and Liu, I.K.M.. (1997) "Morphometric differences in sperm head dimensions of fertile and subfertile stallions". *Theriongenology*, 47, pp. 572-582.
- [3] Spiropoulos, J.. (2001). "Computerized semen analysis (CASA): effect of semen concentration and chamber depth no measurements". *Archives of andrology*, 46, pp. 37-42.
- [4] Iguer-ouada, M., and Verstegen, J.P. (2001). "Evaluation of the 'Hamilton Thorn computer-based automated system' for dog semen analysis", *Theriogenology*, 55, pp. 733-749.
- [5] Buendía, P., Soler, C., Paolicchi, F., Gago, G., Urquieta, B., Pérez-Sánchez, F., and Bustos-Obregón, E. (2002). "Morphometric characterization and classification of alpaca sperm heads using Sperm-Class Analyzer computer-assisted system". *Theriogenology*, 57, pp. 1207-1218.
- [6] Kui Yu Chang, Patter Recognition Toolbox, Universidad de Texas, <http://lans.ece.utexas.edu/~kuiyu>