

DOI: <https://doi.org/10.46502/issn.2710-995X/2021.5.06>

Alonso Jané, C.M., Escobedo Nicot, M., Orúe Sánchez, G., & Galano Compte, A. (2021). Comparativa de métodos de segmentación para el análisis automático de cromosomas humanos. *Orange Journal*, 3(5), 53-62.
<https://doi.org/10.46502/issn.2710-995X/2021.5.06>

Comparativa de métodos de segmentación para el análisis automático de cromosomas humanos

Comparison of segmentation methods for the automatic analysis of human chromosomes

Recibido: 24 de agosto de 2021

Aceptado: 1 de noviembre de 2021

Escrito por:

Carla Maria Alonso Jané¹⁹

<https://orcid.org/0000-0002-0618-6833>

Miriela Escobedo Nicot²⁰

<https://orcid.org/0000-0003-1103-3169>

Goar Orúe Sánchez²¹

<https://orcid.org/0000-0002-1651-3789>

Alexeis Galano Compte²²

<https://orcid.org/0000-0003-3683-1917>

Resumen

Las anormalidades cromosómicas son una causa frecuente de morbilidad y mortalidad en la población humana. El análisis de los cromosomas es empleado en la citogenética para evaluar la presencia de defectos genéticos y otras enfermedades por la visualización de la estructura de los mismos. Este procedimiento se realiza mediante la observación de muestras usando un microscopio óptico, lo cual resulta ser largo y repetitivo y deviene gran esfuerzo para los especialistas que deben permanecer, a veces durante horas, observando en el microscopio los campos visuales para emitir un criterio. En este caso, un análisis automático eficaz ayudaría al trabajo rutinario del citogenetista. La clasificación cromosómica automática incluye tres partes principales: el preprocesamiento y la segmentación de las imágenes, la extracción de características y la posterior clasificación. La etapa de segmentación viene a ser una de las más importantes, pues a partir de ella es que se detectan y aíslan cromosomas simples o agrupamientos de cromosomas para realizar el posterior procesamiento. El presente trabajo tiene como objetivo realizar una revisión de diversos métodos utilizados para la segmentación de imágenes de cromosomas humanos. Se resumen algunas de las principales técnicas y métodos empleados recientemente en esta área de investigación y se discuten las principales ventajas y limitaciones de los métodos de segmentación estudiados.

Palabras clave: análisis automático de cromosomas humanos, cariotipo, cromosomas, métodos de segmentación, segmentación de imágenes.

Abstract

Chromosomal abnormalities are a common cause of morbidity and mortality in the human population. Chromosome analysis is used in cytogenetics to evaluate the presence of genetic defects and other diseases by visualizing their structure. This procedure is carried out by observing samples using an optical microscope, which turns out to be long and repetitive and becomes a great effort for specialists who must remain, sometimes for hours, observing the visual fields in the microscope to emit a criterion. In this case, an efficient automatic analysis would aid the routine work of the cytogeneticist. Automatic chromosome

¹⁹ Ms.C. Profesor Auxiliar. Universidad de Guantánamo. Profesor. Procesamiento digital de imágenes médicas. Cuba.

²⁰ Dr.C. Profesor Titular. Universidad de Oriente. Profesor. Procesamiento de imágenes y visión por computador. Santiago de Cuba, Cuba.

²¹ Ms.C. Profesor Asistente. Universidad de Guantánamo. Cuba.

²² Lic. Profesor Instructor. Universidad de Guantánamo. Procesamiento digital de imágenes médicas. Cuba.

classification includes three main parts: image preprocessing and segmentation, feature extraction, and subsequent classification. The segmentation stage becomes one of the most important, since it is from this stage that single chromosomes or clusters of chromosomes are detected and isolated for further processing. The present work aims to carry out a review of various methods used for the segmentation of images of human chromosomes. Some of the main techniques and methods recently used in this research area are summarized and the main advantages and limitations of the segmentation methods studied are discussed.

Key Words: automatic analysis of human chromosomes, chromosomes, image segmentation, karyotype, segmentation methods.

Introducción

Los cromosomas son estructuras complejas ubicadas en el núcleo de las células. Compuestos por ADN, histonas, otras proteínas, ARN y polisacáridos, en ellos se encuentra codificada la información genética transmitida por los progenitores; su denominación viene de *chromo*, que significa color y *soma* que significa cuerpo (Trejo Bahena & Sánchez González, 2012). El núcleo de cada célula humana contiene 23 pares de cromosomas, excepto en algunas células como, por ejemplo, los espermatozoides, los óvulos o los eritrocitos (Joe Hin Tjio & Levan, 1956). Estos 23 pares se organizan en 22 pares, denominados autosomas y un par de cromosomas sexuales (X e Y) que diferencia ambos sexos (hombre XY y mujer XX). El análisis de las anomalías cromosómicas (ya sean de tipo numéricas y estructurales) se realiza a través del cariotipo, el cual es obtenido a partir de muestras de sangre periférica, muestras de médula ósea (Qiu et al., 2014) y en las embarazadas, del líquido amniótico (Qiu et al., 2013); a estas muestras se le aplica una tinción con un colorante fluorescente y se cultivan para estimular la división celular, después de un tiempo óptimo en cultivo, las células se encuentran en metafase y mediante el microscopio es posible visualizar y obtener imágenes de los cromosomas, ver Figura 1.

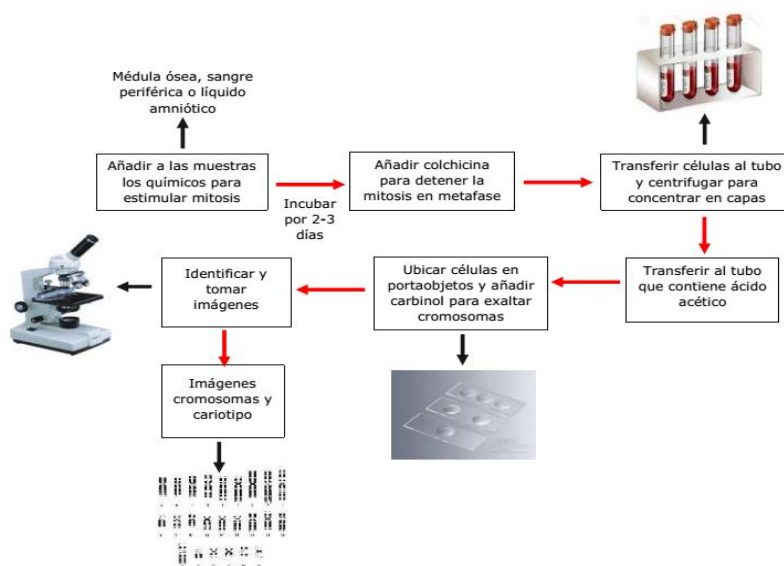


Figura 1. Proceso de extracción de las muestras cromosomas en etapa de metafase. Fuente: Elaboración propia.

A partir de este análisis se determina el tamaño y forma de los cromosomas de acuerdo a 24 clases que han sido definidas por el Sistema Internacional de Nomenclatura para los cromosomas humanos (ISCN, por sus siglas inglés). La organización por tamaño y por tipo en un diagrama se le conoce como cariotograma. Este procedimiento resulta ser largo y repetitivo y deviene gran esfuerzo para los especialistas que deben permanecer, a veces durante horas, observando en el microscopio los campos visuales para emitir un criterio. En este sentido la clasificación cromosómica automática permite reducir la intervención del especialista y con ello el tiempo de construcción del cariotograma. Esta clasificación incluye cuatro partes

principales: el preprocesamiento de las imágenes, la segmentación de los cromosomas, la extracción de características y la clasificación.

La etapa de segmentación viene a ser una de las más importantes, pues a partir de ella es que se detectan y aíslan cromosomas simples o agrupamientos de cromosomas para realizar el posterior procesamiento. Debido que los cromosomas son objetos no rígidos, pueden estar doblados, tocándose o superpuestos, la separación exitosa entre ellos, es vital para una clasificación correcta. En los últimos años, se han desarrollado diversas herramientas automáticas para segmentar los cromosomas (Agam & Dinstein, 1997), (Carothers & Piper, 1994), (Tanvi & Dhir, 2014), (Somasundaram & Nirmala, 2010). Pero el gran desafío para todas estas, es que los cromosomas no siempre se presentan rectos, sino que pueden encontrarse en diferentes orientaciones, pueden estar doblados, pueden tocarse entre sí o superponerse formando así agrupaciones (Jahani, Setarehdan, & Fatemizadeh, 2011). Para tratar de solucionar este problema, se han dado varias soluciones aproximadas (Li, Knoll, Wilkins, Flegel, & Rogan, 2016), (Nair, Remya, & Sabeena, 2015), (Somasundaram & Kumar, 2014), (Madian, Devaraj, Suganthi, & Brightlin, 2020); pero resulta que estos métodos aun no dan resultados 100% precisos.

Considerando todo lo expuesto, el presente trabajo tiene como objetivo realizar una revisión de seis métodos utilizados para la segmentación de imágenes de cromosomas humanos. En las secciones sucesivas del documento, se resumen las principales características de cada método, así como las ventajas y limitaciones de los mismos.

Marco Teórico

Para el desarrollo de la investigación se considera el período comprendido entre el año 2018 y el 2021. Los términos de búsqueda definidos para esta investigación son: cromosomas humanos, análisis de imágenes cromosomas humano, image processing y segmentación automática de cromosomas humanos. Luego de realizar una búsqueda breve, se encontraron algunos artículos de los que se extrajeron nuevas palabras clave. Estas palabras clave son: cariotipo humano, cromosomas en etapa de metafase, segmentación de cromosomas en metafase, extracción de características, pre-procesamiento de imágenes. Combinando las palabras claves encontradas con los primeros términos de búsqueda, formamos la cadena de consulta final de la siguiente manera: segmentación, extracción de características de imágenes de cromosomas humanos o análisis de imágenes cromosomas en etapa de metafase o segmentación y extracción de características de imágenes cromosomas humanos.

Para esta revisión, se escogieron artículos y referencias publicadas a partir de 2018, considerando los que tienen los siguientes criterios: artículos con objetivos de investigación bien definidos, con detalles sobre el proceso de segmentación, la extracción y presentación de los datos, todos ellos en relación a la obtención del cariotipo humano en etapa de metafase. Y que se hayan publicado en revistas o conferencias escritas en español o inglés.

Los siguientes tipos de documentos fueron excluidos: artículos bajo el proceso de discusión o que fueron remitidos a otros tipos de componentes de la sangre y no incluye los cromosomas humanos. Encuestas informales de literatura (sin preguntas de investigación definidas, sin proceso de búsqueda, sin proceso definido de extracción o análisis de datos). Artículos que se refieren a patologías relacionadas con cromosomas humanos que no afectan como tal la forma de los mismos (por ejemplo: el cáncer).

Metodología

En esta sección se describe brevemente los métodos de segmentación que se han tenido en cuenta para la realización de esta investigación. En total se valoraron seis métodos y se realizó el análisis considerando la cantidad de imágenes que se usan, si se realiza o no el pre- procesamiento de la imagen, la velocidad del método, las métricas consideradas, la tasa de error, la precisión, las herramientas empleadas, si se analizan o no los solapamientos de cromosomas y por último si se realiza la comparación con otros métodos.

Método de Altinsoy y colaboradores

Altinsoy y colaboradores (Altinsoy et al., 2019), proponen la segmentación de la imagen de banda G23 usando el método de segmentación U-net basado en una red neuronal convolucional. El modelo original U-net es una red neuronal simétrica totalmente convolucional que consta de dos partes: muestreo descendente (lado izquierdo) y muestreo ascendente (lado derecho). La idea fundamental que persigue este método es la de transferir la información espacial desde el codificador al decodificador (el codificador se encargará de extraer las características de la imagen, mientras que el decodificador se encargará de recuperar los detalles de los objetos proyectando las características extraídas en el espacio de píxeles, para obtener una clasificación de los mismos). Este tipo de conexiones, en las que se copian o se suman las salidas de unas capas a otras que no son inmediatamente posteriores, saltándose a capas intermedias, se denominan *skip connections*. Con la introducción de las *skip connections* en las redes lo que se busca es tratar de mejorar el detalle de la segmentación, y conseguir formas y bordes mucho más precisos.

En este estudio, se utiliza la arquitectura U-net pero realizando cambios relativos al número de mapas de características, el tamaño de las imágenes de entrada y salida, así como la inclusión de una capa de abandono después de los bloques convolucionales 4to (antes de la capa de agrupación máxima) y 5to para la evaluación del modelo.

Método de Sun y colaboradores

En (Sun et al., 2021), Sun y colaboradores investigan la aplicabilidad de las redes neuronales convolucionales dilatadas para la segmentación automática de cromatografía superpuesta. La tarea se logra incorporando circunvoluciones dilatadas mejoradas en la estructura de una red U-Net. Primero, la existencia de una convolución suavizado y dilatada, con una convolución separable y compartida (SS) y una convolución suavizada y dilatada con una operación de interacción de grupo (GI), son usadas dentro de la U-Net. Posteriormente, se proponen tres convoluciones dilatadas mejoradas, es decir las convoluciones dilatadas con el grupo compartido (GS), con la información completa (FI) y con la operación de interacción de grupo (FIGI) son aplicadas al modelo de segmentación de cromosomas superpuestos.

El rendimiento del modelo de segmentación U-Net se comparó con y sin la convolución dilatada mejorada. Todos los modelos propuestos con las convoluciones dilatadas mejoradas lograron mejores resultados de segmentación que el modelo básico U-net. Los resultados experimentales muestran que la convolución dilatada proporciona un rendimiento excelente para la segmentación cromosómica superpuesta.

Método de Menaka y Vaidyanathan

Menaka y Vaidyanathan (Menaka & Vaidyanathan, 2019), utilizan para la segmentación el algoritmo de maximización de expectativas (EM por sus siglas en inglés), sobre 30 conjuntos de imágenes obtenidas con la técnica de tinción multiespectral M-FISH, tomadas de la base de datos ADIR. Este algoritmo encuentra agrupaciones naturales dentro de los datos en función de los parámetros de entrada. Varias características de las imágenes como la intensidad de los píxeles, el color, la textura, la ubicación o la combinación de estas, se utilizan para la formación de clústeres.

El ciclo EM comienza con un paso de Expectativa (E) que es caracterizado por la siguiente ecuación:

$$E[Z_{ij}] = \frac{p(X = x_i | \mu = \mu_j)}{\sum_{n=1}^k p(X = x_i | \mu = \mu_n)} = \frac{e^{-\frac{1}{2\sigma^2} (x_i - \mu_j)^2}}{\sum_{n=1}^k e^{-\frac{1}{2\sigma^2} (x_i - \mu_n)^2}} \quad (1)$$

Esta ecuación representa que las expectativas (E) para el píxel z con respecto a la separación j, es igual a la probabilidad (p) de que x sea un píxel con brillo x_i , dado que μ es igual a μ_i dividido por la suma sobre todas las particiones k. El cuadrado de sigma representa la covarianza de los datos de los píxeles.

²³ Técnica de bandeo para mejorar la visualización de los cromosomas en metafase.

Una vez que se ha logrado el paso E y cada píxel tiene un peso o media para cada separación, comienza el paso M o paso de maximización. Este paso se explica mediante la siguiente ecuación:

$$\mu_j \leftarrow \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m E[Z_{ij}]x_i \quad (2)$$

Esta ecuación representa que el valor de separación j se cambia a la media ponderada de los valores de brillo del píxel, en donde las ponderaciones se obtienen a partir de la etapa de Expectación.

Método Arora

Arora en (Arora, 2019), presenta un enfoque de segmentación imágenes de cromosomas en metafase usando la técnica de contornos activos basados en regiones. los que se basan en la evolución de contornos, y que se conocen en la literatura como contornos activos o modelos deformables, los cuales fueron propuestos con efectividad por primera vez por Kass y Terzopoulos (Kass, Witkin, & Terzopoulos, 1988). Estos métodos en algunas de sus variantes son capaces de obtener buenos resultados y converger a los contornos de interés, aunque las imágenes cuenten con un cierto nivel de ruido. Esta técnica utiliza los valores de intensidad local de las regiones cercanas de los objetos y encuentra los valores de intensidad aproximados a ambos lados del contorno. Los cromosomas que se tocan y están superpuestos son separados para encontrar los puntos de corte, usando puntos cóncavos y convexos a lo largo del límite de los grupos de cromosomas. El mejor corte será realizado utilizando los valores del gradiente de los puntos de corte.

Método de Shen y colaboradores

En (Shen et al., 2019), los autores proponen un algoritmo de segmentación de procesamiento conjunto que combina un algoritmo de agrupamiento con el método Watershed. El algoritmo de agrupamiento de K-Means se utiliza principalmente para implementar la agrupación automática, siendo un algoritmo de aprendizaje automático no supervisado y usado considerablemente. En este artículo se utiliza los algoritmos K-Means ++ y Watershed para la segmentación de cromosomas. En el primer paso, el algoritmo de agrupamiento elimina las impurezas de la imagen original y realiza la segmentación inicial. Después de que se completa el primer paso del agrupamiento, se genera una gran cantidad de grupos de cromosomas y se genera una pequeña cantidad de cromosomas individuales. Luego, los grupos de cromosomas seleccionados se vuelven a segmentar. Una vez finalizado este paso, las partes centrales de los cromosomas están teñidas de forma oscura en los bordes opuestos, este algoritmo de agrupamiento hace que los cromosomas sean más delgados, haciendo así que los cromosomas superpuestos a gran escala se logren separar. Para asegurar la consistencia de la morfología cromosómica, se utiliza el algoritmo Watershed. Este algoritmo segmenta aún más los cromosomas ligeramente contiguos, de manera, que los cromosomas individuales en el grupo de cromosomas puedan ser segmentados completamente. En este momento, los diferentes cromosomas se etiquetan con el punto de semilla como punto de referencia, y cada cromosoma puede ser separado de acuerdo con la etiqueta.

Método de Yilmaz y colaboradores

En (Yilmaz, Yang, Altinsoy, & Zhou, 2018), Yilmaz y colaboradores presentan un nuevo algoritmo de extremo a extremo para la segmentación de imágenes cromosómicas. Se comienza eliminando el fondo y las partes de la célula no deseadas. Debido a que el fondo cubre una gran parte de la imagen, su histograma alcanza su punto máximo en el nivel de gris del fondo. Luego, se eliminan los píxeles con un valor en una vecindad del nivel de gris del fondo. Después de esta eliminación, la imagen todavía tiene algunas partes de fondo oscuro entre los cromosomas y esto disminuye la precisión de la segmentación. Para deshacerse de ellos, se implementa el método de umbral adaptativo ponderado de Gauss que está inspirado en el umbral adaptativo local de Grisan (Grisan, Poletti, & Ruggeri, 2009). Dado que detectar y separar objetos que se tocan con un algoritmo recursivo es un trabajo que requiere mucho tiempo, se aplica una segmentación de cuenca binaria suave, en la máscara binaria de la imagen para separar los grupos de cromosomas que tienen un pequeño vínculo. Después de eso, todos los objetos conectados se examinan para saber, si se trata de un solo cromosoma o un grupo, utilizando sus características geométricas y esqueléticas. Para el resto de objetos en contacto, se encuentran puntos de corte apropiados usando cambios de curvatura y ángulo del límite, luego se calcula la transformación de distancia geodésica en escala de grises para separarlos.

Finalmente, se detectan regiones superpuestas de grupos y su centro, y así se divide la imagen del grupo, en regiones para que cada una de ellas contenga un verdadero punto de corte. Usando esos centros superpuestos, puntos de corte verdaderos e información del esqueleto de grupos superpuestos, se crean las diferentes combinaciones de posibles cromosomas.

Resultados y discusión

Para la validación de los resultados obtenidos en cada estudio se emplearon imágenes que fueron adquiridas por los propios investigadores o forman parte de bases de datos públicas, las cuales contienen información que se considera “ground truth”, para el proceso de segmentación. Los estudios presentados en (Arora, 2019) y (Menaka & Vaidyanathan, 2019), fueron evaluados en el conjunto de datos proporcionado por ADIR (Advanced Digital Imaging Research), base de datos integral, conformada por un conjunto de 200 imágenes basados en cariotipo humano, que se dividen en directorios y diapositivas. En (Sun et al., 2021), se entrenaron y validaron los datos, utilizando dos bases de datos públicas: Overlaps-13434, conformada por 13434 pares de cromosomas superpuestos y Overlaps-90667 conformada por 90667 pares de cromosomas superpuestos. En (Yilmaz et al., 2018), se utilizaron un conjunto de datos proporcionados por especialistas de manera manual, mientras que en (Shen et al., 2019), se obtuvieron las imágenes mediante un algoritmo en tres partes desarrollado en Visual Studio 2013, y el software fue implementado en C++.

En lo relativo a las etapas del procesamiento de imágenes, haciendo énfasis en el pre-procesamiento considerando la importancia de la misma para el resultado final de la segmentación, los artículos valorados emplean diferentes métodos. El pre-procesamiento, contribuye a la eliminación de ruido y restos en las imágenes de cromosomas. En (Altinsoy et al., 2019), (Arora, 2019) y (Shen et al., 2019), no consideran la realización de pre-procesamiento en las imágenes. En (Menaka & Vaidyanathan, 2019) para reducir el ruido y el ruido blanco, se emplea el filtro de mediana ponderada; los restos y núcleos presentes en la imagen se eliminan en función del tamaño y la circularidad. En (Yilmaz et al., 2018), las imágenes tienen un tono ruidoso y sombrío, y por tanto se propone un modelo en dos partes, la primera parte es para limpiar el fondo y la segunda parte es para el umbral aplicando el método de umbral adaptativo ponderado gaussiano.

En cuanto a la velocidad de los métodos desarrollados en (Sun et al., 2021), (Arora, 2019), (Shen et al., 2019) y (Yilmaz et al., 2018), no se especifica la velocidad obtenida al realizar la segmentación de las imágenes. En (Altinsoy et al., 2019), el modelo entrenado se prueba en varias imágenes y se necesitan alrededor de 0,25 s para segmentar una imagen. En (Menaka & Vaidyanathan, 2019), se considera que el método es rápido en comparación con los métodos de cariotipo estándar basados en píxeles.

Para la evaluaciones de los modelos propuestos se usan diferentes métricas, entre estas está la precisión utilizada en (Menaka & Vaidyanathan, 2019), (Arora, 2019) y (Shen et al., 2019); como una medida cuantitativa para estimar la salida, se calcula como sigue: la suma de los verdaderos positivos (TP) y los verdaderos negativos (TN), divididos por la suma de los verdaderos positivos (TP), los verdaderos negativos (TN), falsos positivos (FP) y falsos negativos (FN). En (Altinsoy et al., 2019), se utilizó la distancia de Jaccard junto al coeficiente de similitud dice (DSC) como métricas de evaluación. La primera mide la disimilitud entre dos conjuntos de muestras (ground truth y resultado de la segmentación) y se define como el complemento del coeficiente de Jaccard; la segunda calcula el solapamiento espacial entre el resultado de la segmentación y el ground truth. En (Sun et al., 2021) se utilizan la función de pérdida de distancia de Jaccard para estimar cada parte de la segmentación y la precisión se utilizó como medida cuantitativa para estimar la salida. En (Yilmaz et al., 2018), no se especifica la métrica utilizada. La precisión de los métodos de segmentación estudiados se comportó de la siguiente manera: los más altos se obtuvieron en Yilmaz et al. (2018) con un 97,8%, Altinsoy et al. (2019) con un 96,97% y el método propuesto por Arora (2019) con un 96,7%. Con el método propuesto por Menaka & Vaidyanathan (2019), se obtuvo un 90,60%, mientras que la obtenida por Shen et al. (2019), fue la más baja con un 75,6%. En Sun et al. (2021), no se especifica.

En cuanto al análisis del error en la segmentación obtenida, con una tasa de error mínima se obtuvieron los resultados en (Altinsoy et al., 2019) y (Shen et al., 2019), mientras que en (Sun et al., 2021), (Menaka & Vaidyanathan, 2019) y (Yilmaz et al., 2018), no se especifica este dato. En los trabajos seleccionados se emplearon diferentes herramientas para realizar la segmentación. En (Shen et al., 2019), se utilizó Visual

Studio 2013 como herramienta para obtener las imágenes segmentadas; en (Sun et al., 2021), se utilizaron Python 3.6.7, Tensorflow1.3.0 y Pycharm 2017.2.4, para la segmentación. En (Altinsoy et al., 2019) el modelo fue implementado con Keras. En el caso de los trabajos presentados en (Menaka & Vaidyanathan, 2019), (Arora, 2019) y (Yilmaz et al., 2018), no refieren el uso de herramientas.

La segmentación de cromosomas superpuestos o cromosomas que se tocan, es la tarea más difícil en el procesamiento de imágenes cromosómicas porque depende completamente del procesamiento manual que se realice sobre la muestra, ello implica que la segmentación automática de cromosomas y la separación exitosa de esto, es un problema a resolver de vital importancia. Los resultados para este apartado en (Sun et al., 2021) son los más efectivos en la separación de cromosomas superpuestos por el método propuesto obteniendo un 99% de efectividad. En (Arora, 2019) el método propuesto obtuvo un 81% de éxito, mientras que en (Shen et al., 2019), se obtuvo un 75.6% y en (Yilmaz et al., 2018) en total, 6532 de 6678 cromosomas fueron separados correctamente para un 97.8%. En todos los casos los métodos propuestos obtuvieron los mejores resultados en la separación de cromosomas superpuestos, haciéndola su propósito principal. Las investigaciones que se presentan en (Altinsoy et al., 2019) y (Menaka & Vaidyanathan, 2019), no realizan análisis de solapamientos.

En todos los artículos revisados se realizan comparaciones con otros métodos. En (Altinsoy et al., 2019) el método propuesto U-Net + CNN, logró segmentar los cromosomas con errores muy pequeños, comparado con el método del umbral adaptativo local, arrojando que, en imágenes muy ruidosas el método U-Net + CNN, realiza la segmentación con pequeños errores, y cuando la imagen del cromosoma no es muy ruidosa, ambos métodos U-Net + CNN y umbral adaptativo local, tienen resultados satisfactorios. En (Altinsoy et al., 2019) fueron comparados además, los métodos de segmentación U-Net-SS, U-Net-GI, U-Net-GS, U-Net-FI y U-Net-FIGI con U-Net básico, resultando que todos los métodos propuestos tuvieron los mejores resultados en la segmentación de cromosomas superpuestos. El rendimiento del modelo de segmentación U-Net se comparó con y sin la convolución dilatada mejorada. Todos los modelos propuestos con las convoluciones dilatadas mejoradas lograron mejores resultados de segmentación que el modelo básico U-net. En (Menaka & Vaidyanathan, 2019) el algoritmo de segmentación de maximización de expectativas (EM), es utilizado para segmentar los cromosomas del fondo de la imagen y resultó ser más preciso que el algoritmo de Watershed, con el que fue comparado.

En (Arora, 2019) se compararon los resultados de la segmentación para los cromosomas que se tocan con los métodos Schwartzkopf's (Schwartzkopf, Bovik, & Evans, 2005), que propone una técnica de máxima verosimilitud para la clasificación-segmentación conjunta, Ji's (Ji, 1989) que presenta una división inteligente en el dominio de los cromosomas y Karveli's (Karvelis, Likas, & Fotiadis, 2010) que utiliza los métodos de la transformación de la cuenca hidrográfica (watershed transform) y la ruta de gradiente (gradient paths), donde el método propuesto, tuvo el mejor resultado. Y para los cromosomas superpuestos el método propuesto obtuvo también el mejor resultado comparado con Schwartzkopf's (Schwartzkopf et al., 2005) y Karveli's (Karvelis et al., 2010). Los resultados experimentales han mostrado un rendimiento bastante bueno. El método pudo determinar 1178 cromosomas que se tocan y 189 que están superpuestos. Los resultados de la segmentación para los cromosomas que se tocan son bastante alentadores en comparación con los métodos Schwartzkopf's 77%, Ji's 84.2%, Karveli's 90.6%, el método propuesto 96.7%. Pero los resultados para los cromosomas superpuestos no son tan satisfactorios Schwartzkopf's 34%, Karveli's 80.4%, método propuesto 81%. La segunda contribución significativa es que, es aplicable a cualquier tipo de imágenes cromosómicas como con bandas G o Imágenes con bandas Q.

En (Shen et al., 2019) se comparó K-Means ++ y Watershed con el algoritmo del umbral, obteniendo el algoritmo propuesto, los mejores resultados. En (Yilmaz et al., 2018) se comparó con los métodos de Ji, Liang (Ji, 1994) que propone una segmentación cromosómica completamente automática, Karveli's (Karvelis, Fotiadis, Syrrou, & Georgiou, s. f.) que presentan un método de transformación de cuencas recursiva (recursive Watershed Transform) y Grisan's (Grisan et al., 2009), que realizan una segmentación y desenlazado automático de cromosomas, en este caso el método propuesto obtuvo el mejor resultado. En (Yilmaz et al., 2018) se probó el método propuesto en 145 imágenes cromosómicas que contienen 6678 cromosomas, las mismas fueron obtenidas de forma manual por un experto con el objetivo de realizar la comparación con los resultados obtenidos. De total de cromosomas fueron extraídos correctamente 6532 (97,8%).

En la Tabla I, se hace un resumen de las principales características analizadas en los artículos valorados.

Tabla 1.

Análisis comparativo de métodos de segmentación en imágenes de cromosomas en metafase.

Características	U-Net + CNN (Altinsoy et al., 2019)	Convoluciones dilatadas + U-net (Sun et al., 2021)	EM (Menaka & Vaidyanathan, 2019)	Contornos activos basados en regiones (Arora, 2019)	K-Means ++ y Watershed (Shen et al., 2019)	Extremo a extremo (Yilmaz et al., 2018)
Número de imágenes	40	No especificada (BD pública)	30 conjuntos	Conjunto 200	15000	145
Pre-procesamiento de la imagen	no	no	si	no	no	si
Velocidad	0.25s para una imagen	No especificada	rápido	No especificada	No especificada	No especificada
Métricas consideradas	Distancia de Jaccard / coeficiente de similitud (DSC)	Distancia de Jaccard/ Accuracy	Accuracy	Accuracy	Accuracy	No especifica
Tasa de error	mínima	No especificada	No especificada	No especificada	mínima	No especificada
Precisión	96.97%	No especificada	90.60%	96.7%	75.6%	97.8%
Herramientas	Keras	Pycharm	no	no	Visual Studio 2013	no
Análisis de los solapamientos	no	si	no	si	si	si
Comparación con otros métodos	si	si	si	si	si	si

Considerando todo lo descrito anteriormente se pueden arribar a las siguientes limitaciones en segmentación automática de cromosomas con respecto a los seis artículos valorados:

- De los seis estudios seleccionados, tres utilizan imágenes adquiridas por los investigadores, el otro 50% emplea bases de datos públicas. Esto significa que los estudios analizados han probado y validado los enfoques propuestos en conjuntos de datos diferentes, por tanto, los resultados no son directamente comparables, pues depende de las características de las imágenes.
- En la mayor parte de los estudios analizados, no se tiene en cuenta el pre-procesamiento de las imágenes. Este paso resulta necesario principalmente para la eliminación de ruido y restos en las imágenes de cromosomas, pudiendo influir en una segmentación más eficiente.
- Solo en un 1 estudio se especifica la velocidad y en otro se dice que es rápida comparada con otros métodos, aunque no precisan cuan rápido. En 4 de los estudios, no se especifica la velocidad de los métodos propuestos. Por lo que, se considera que se deben tener en cuenta este parámetro, que permita una segmentación precisa de los cromosomas, sin comprometer el costo computacional.

- No en todos los casos se analizan el solapamiento de los cromosomas y en los que son analizados y tratados, no se obtienen en su totalidad todos los cromosomas superpuestos o que se tocan. Por lo que no se logra el 100% de la segmentación de manera automática.

Conclusiones

En este trabajo se examinan seis métodos desarrollados para la segmentación de cromosomas, área de investigación que aún representa un tema abierto. De acuerdo con los estudios revisados, no se puede garantizar el 100% de la segmentación y extracción precisa de manera totalmente automatizada de los cromosomas, debido a la naturaleza no rígida de estos. La mayor parte de los estudios informados ha probado y validado los enfoques propuestos en conjuntos de datos no estándar. Por tanto, los resultados no son directamente comparables, debido a los diferentes conjuntos de datos e imágenes cromosómicas que se han utilizado en cada estudio. Los mejores resultados en cuanto a precisión con más del 95%, los obtuvieron los enfoques utilizados en (Altinsoy et al., 2019), (Arora, 2019) y (Yilmaz et al., 2018), que pueden ser utilizados en la segmentación de imágenes de cromosomas y puede ayudar a reducir la complejidad de la tarea haciéndola más sencilla y eficiente. La revisión realizada contribuye a tener una visión general de los métodos de segmentación de imágenes de cromosomas en metafase, tarea que todavía requiere mucho tiempo y esfuerzo, con el fin de mejorar los sistemas para la detección eficiente de anomalías genéticas y diagnóstico de enfermedades.

Referencias Bibliográficas

- Agam, G., & Dinstein, I. (1997). Geometric Separation of Partially Overlapping Nonrigid Objects Applied to Automatic Chromosome Classification. *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell.* <https://doi.org/10.1109/34.632981>
- Altinsoy, E., Yilmaz, C., Wen, J., Wu, L., Yang, J., & Zhu, Y. (2019). Raw G-Band Chromosome Image Segmentation Using U-Net Based Neural Network. *Artificial Intelligence and Soft Computing*, 117-126. Cham: Springer, https://doi.org/10.1007/978-3-030-20915-5_11
- Arora, T. (2019). A Novel Approach for Segmentation of Human Metaphase Chromosome Images Using Region Based Active Contours. *Int. Arab J. Inf. Technol.*, 16(1), 132-137
- Carothers, A., & Piper, J. (1994). Computer-aided classification of human chromosomes: a review. *Statistics and Computing*, 4(3), 161-171. <https://doi.org/10.1007/BF00142568>
- Grisan, E., Poletti, E., & Ruggeri, A. (2009, febrero 3). Automatic segmentation and disentangling of chromosomes in Q-band prometaphase images. *IEEE Transactions on Information Technology in Biomedicine*. Recuperado 30 de agosto de 2021, de <https://dl.acm.org/doi/10.1109/TITB.2009.2014464>
- Jahani, S., Setarehdan, K., & Fatemizadeh, E. (2011). Automatic Identification of Overlapping/Touching Chromosomes in Microscopic Images Using Morphological Operators. 2011 7th Iranian Conference on Machine Vision and Image Processing, MVIP 2011 - Proceedings. <https://doi.org/10.1109/IranianMVIP.2011.6121574>
- Ji, L. (1989). Intelligent splitting in the chromosome domain. *Pattern Recognition*, 22(5), 519-532. [https://doi.org/10.1016/0031-3203\(89\)90021-6](https://doi.org/10.1016/0031-3203(89)90021-6)
- Ji, L. (1994). Fully automatic chromosome segmentation. *Cytometry*, 17(3), 196-208. <https://doi.org/10.1002/cyto.990170303>
- Joe Hin Tjio, & Levan, A. (1956). The chromosome number of man. *Hereditas: Genetiskt Arkiv*, (Band 42), 80-85.
- Karvelis, P., Fotiadis, D. I., Syrrou, M. V., & Georgiou, I. (s. f.). Segmentation of chromosome images based on a recursive watershed transform. In *IFMBE Proc.* Recuperado 2 de septiembre de 2021, de https://www.researchgate.net/publication/228367656_Segmentation_of_chromosome_images_based_on_a_recursive_watershed_transform
- Karvelis, P., Likas, A., & Fotiadis, D. I. (2010). Identifying touching and overlapping chromosomes using the watershed transform and gradient paths. *Pattern Recognition Letters*, 31(16), 2474-2488. <https://doi.org/10.1016/j.patrec.2010.08.002>
- Kass, M., Witkin, A., & Terzopoulos, D. (1988). Snakes: Active contour models. *International Journal of Computer Vision*, 1(4), 321-331. <https://doi.org/10.1007/BF00133570>

- Li, Y., Knoll, J. H., Wilkins, R. C., Flegel, F. N., & Rogan, P. K. (2016). Automated discrimination of dicentric and monocentric chromosomes by machine learning-based image processing. *Microscopy Research and Technique*, 79(5), 393-402. <https://doi.org/10.1002/jemt.22642>
- Madian, N., Devaraj, S., Suganthi, S. T., & Brightlin, B. C. (2020). Graph Partitioning approach for Segmentation of Banding Pattern of G-band Metaphase Human Chromosomes. 2020 International Conference on Computer Communication and Informatics (ICCCI), 1-5. Coimbatore, India: IEEE. <https://doi.org/10.1109/ICCCI48352.2020.9104123>
- Menaka, D., & Vaidyanathan, S. G. (2019). Expectation Maximization Segmentation Algorithm for Classification of Human Genome Image. 2019 3rd International Conference on Computing Methodologies and Communication (ICCMC), 1055-1059. <https://doi.org/10.1109/ICCMC.2019.8819686>
- Nair, R. M., Remya, R., & Sabeena, K. (2015). Karyotyping Techniques of Chromosomes: A Survey. *International Journal of Computer Trends and Technology*, 22(1), 30-34. <https://doi.org/10.14445/22312803/IJCTT-V22P107>
- Qiu, Y., Chen, X., Li, Y., Chen, W. R., Zheng, B., Li, S., & Liu, H. (2013). Evaluations of auto-focusing methods under a microscopic imaging modality for metaphase chromosome image analysis. *Analytical Cellular Pathology (Amsterdam)*, 36(0), 37. <https://doi.org/10.3233/ACP-130077>
- Qiu, Y., Song, J., Lu, X., Li, Y., Zheng, B., Li, S., & Liu, H. (2014). Feature selection for the automated detection of metaphase chromosomes: performance comparison using a receiver operating characteristic method. *Analytical Cellular Pathology (Amsterdam)*, 565392. <https://doi.org/10.1155/2014/565392>
- Schwartzkopf, W. C., Bovik, A. C., & Evans, B. L. (2005). Maximum-likelihood techniques for joint segmentation-classification of multispectral chromosome images. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 24(12), 1593-1610. <https://doi.org/10.1109/TMI.2005.859207>
- Shen, X., Qi, Y., Ma, T., & Zhou, Z. (2019). A dicentric chromosome identification method based on clustering and watershed algorithm. *Scientific Reports*. Recuperado 2 de septiembre de 2021, de <https://www.nature.com/articles/s41598-019-38614-7>
- Somasundaram, D., & Kumar, V. V. (2014). Separation of overlapped chromosomes and pairing of similar chromosomes for karyotyping analysis. *Measurement*, 48, pp. 274-281, <https://doi.org/10.1016/J.MEASUREMENT.2013.11.024>
- Somasundaram, D., & Nirmala, M. (2010). Automatic segmentation and karyotyping of chromosomes using bio-metrics. *INTERACT-2010*. <https://doi.org/10.1109/INTERACT.2010.5706191>
- Sun, X., Li, J., Ma, J., Xu, H., Chen, B., Zhang, Y., & Feng, T. (2021, marzo 2). Segmentation of overlapping chromosome images using U-Net with improved dilated convolutions - IOS Press. Recuperado 2 de septiembre de 2021, de <https://content.iospress.com/articles/journal-of-intelligent-and-fuzzy-systems/ifs201466>
- Tanvi, T., & Dhir, R. (2014). An Efficient Segmentation Method for Overlapping Chromosome Images. *International Journal of Computer Applications*, 95, 29-32. <https://doi.org/10.5120/16560-4861>
- Trejo Bahena, N. I., & Sánchez González, D. J. (2012). *Biología Celular y Molecular*. México: Editorial Alfil, S.A. de C.V. Recuperado de <https://library.biblioboard.com/content/9c403008-9442-477a-9a93-acef21651096>
- Yilmaz, I. C., Yang, J., Altinsoy, E., & Zhou, L. (2018). An Improved Segmentation for Raw G-Band Chromosome Images. 2018 5th International Conference on Systems and Informatics (ICSAI), 944-950. <https://doi.org/10.1109/ICSAI.2018.8599328>