



Software "Fiber" usado para la Clasificación de Fibras Musculares en Imágenes Histológicas



Chávez Fragoso Gonzalo Adán¹, López Ortega Omar², Rodríguez Torres Erika Elizabeth³, López García Kenia⁴ y Jiménez Estrada Ismael⁴
¹Licenciatura en Matemáticas Aplicadas, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. ²Centro de Investigación en Tecnologías de Información y Sistemas, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. ³Centro de Investigación en Matemáticas, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, ⁴Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, CINVESTAV-IPN.

1 Introducción

El músculo esquelético está conformado por distintos tipos de fibras, las cuales pueden caracterizarse mediante tinciones histoquímicas (como mATPasa, NADH-TR y COX). La identificación y clasificación de las fibras se ha llevado a cabo visualmente por un experto humano, lo que conlleva una considerable inversión de recursos y tiempo. Por lo anterior, presentamos en este trabajo un sistema computacional que permite la automatización de la tarea de clasificación de las fibras musculares en un menor tiempo y que requiere menor intervención por parte de un experto, manteniendo un alto grado de eficiencia, así como el realizar la medición del área de las fibras musculares.



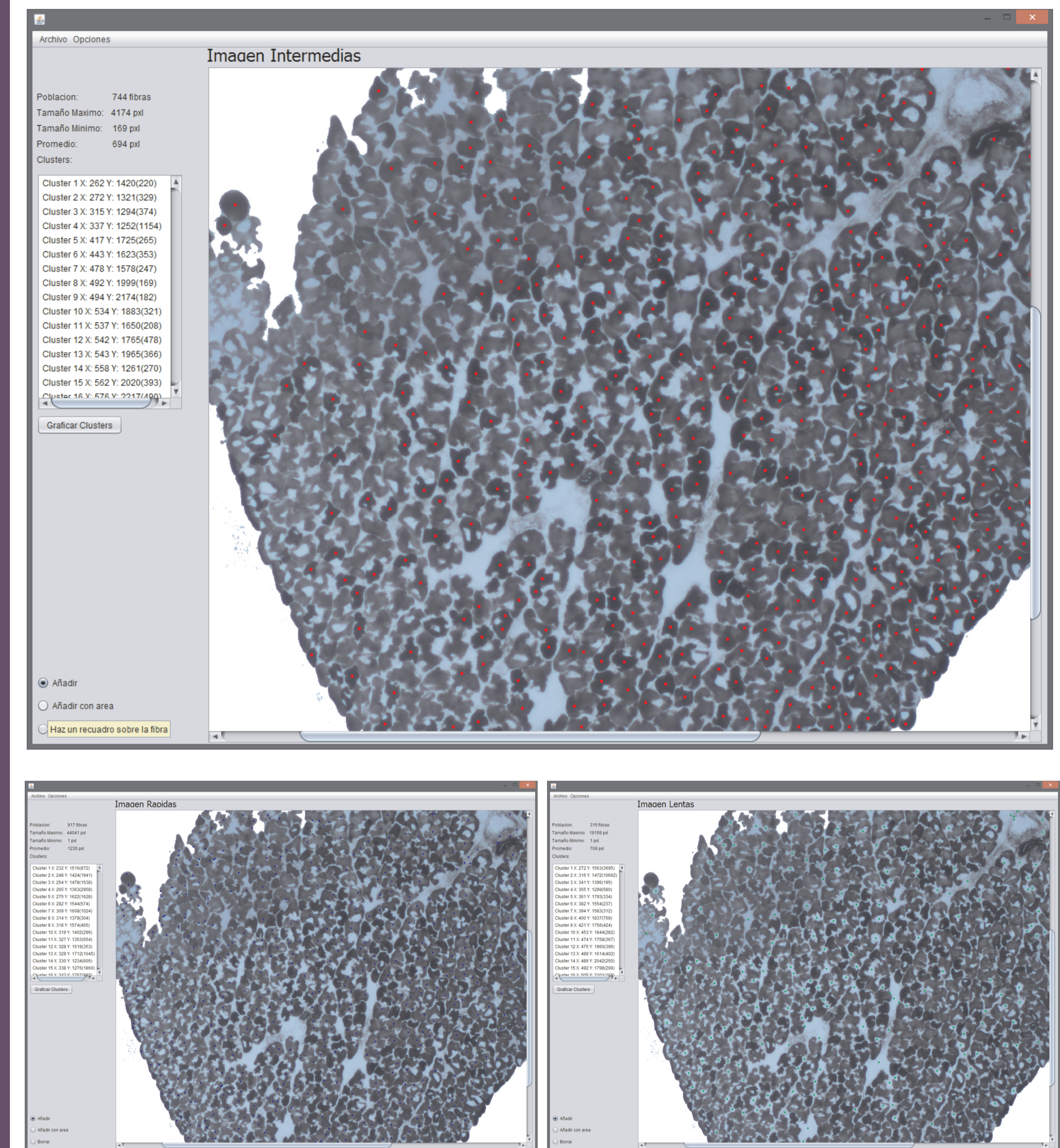
2 Características del software

- Clasificación de fibras musculares de manera automática en una imagen histológica teñida con tinciones NADH, ATPasa y COX de acuerdo a la coloración.
- Capacidad de conteo de las fibras musculares de cada uno de los tipos de tinción.
- Localización de cada fibra dentro de la imagen en formato de coordenadas (x,y).
- Visualización y edición de los resultados sobre la imagen analizada.
- Almacenamiento en formatos de hoja de cálculo par análisis posteriores.
- Soporte para los sistemas operativos más utilizados en la actualidad y optimización necesaria para que las computadoras de prestaciones promedio.

3 Cortes Histológicos

Para evaluar este programa se analizaron 47 imágenes de cortes transversales de 10 µm de grosor de fascículos del músculo extensor digitorum longus de ratas Wistar macho de 35 días de edad, teñidas con la técnica de ATPasa básica (pH 9.4), clasificando a las fibras en: lentas, intermedias y rápidas; se contó el número de fibras de cada tipo, por un experto humano, el programa solo (S) y el programa asistido por el experto (SE)

Validación del uso del software



4 Metodología

El conjunto $S = \{z_1, z_2, \dots, z_N\}$ de posiciones de fibras se particiona en $N \times N$ celdas (N a determinar por el investigador), para cada celda C_{ij} , sea $S_{ij} = \{z_k \in C_{ij}\}$ y $|S_{ij}|$ la cardinalidad de S_{ij} , sea $\bar{z}_{ij} = \frac{1}{|S_{ij}|} \sum_{z_k \in S_{ij}} z_k$ el centroide de S_{ij} .

Entonces se calcula la matriz de covarianza de S_{ij}

$$\Sigma_{ij} = \frac{1}{(|S_{ij}| - 1)} \sum_{z_k \in S_{ij}} (z_k - \bar{z}_{ij})(z_k - \bar{z}_{ij})^t$$

la cual es positiva definida e invertible, con la cual se calcula la función Gaussiana bivariable de C_{ij}

$$\phi_{i,j} = e^{-\frac{1}{2}(z_k - \bar{z}_{ij})^t \Sigma_{ij}^{-1} (z_k - \bar{z}_{ij})}$$

Con dichas funciones se construye la función de distribución de S de la siguiente manera:

$$\Phi(z) = \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N R_{i,j} \phi_{i,j} \text{ donde } R_{i,j} = |S_{ij}|.$$

Tenemos que $\kappa_{i,j}(y, z) = e^{-\frac{1}{2}(y-z)^t \Sigma_{ij}^{-1} (y-z)}$ con las matrices de covarianza de cada celda; son funciones de núcleo. $\mathcal{L}_{i,j} = \text{span}\{\kappa_{i,j}(t, \cdot); y \in \mathbb{R}^2\}$ es un espacio lineal con producto interno. Consideremos dos elementos de $\mathcal{L}_{i,j}$, $f(z) = \sum_{u=1}^m D_u \kappa_{i,j}(u, z)$ y $g(z) = \sum_{v=1}^n E_v \kappa_{i,j}(v, z)$

entonces su producto interno está dado por $(f, g)_{ij} = \sum_{u=1}^m \sum_{v=1}^n D_u E_v \kappa_{i,j}(u, v)$ y por lo tanto

se tiene que $\|f\|_{ij}^2 = (f, f)_{ij} = \sum_{k=1}^m \sum_{l=1}^m D_k D_l \kappa_{i,j}(u_k, u_l)$ y que se puede definir la distancia

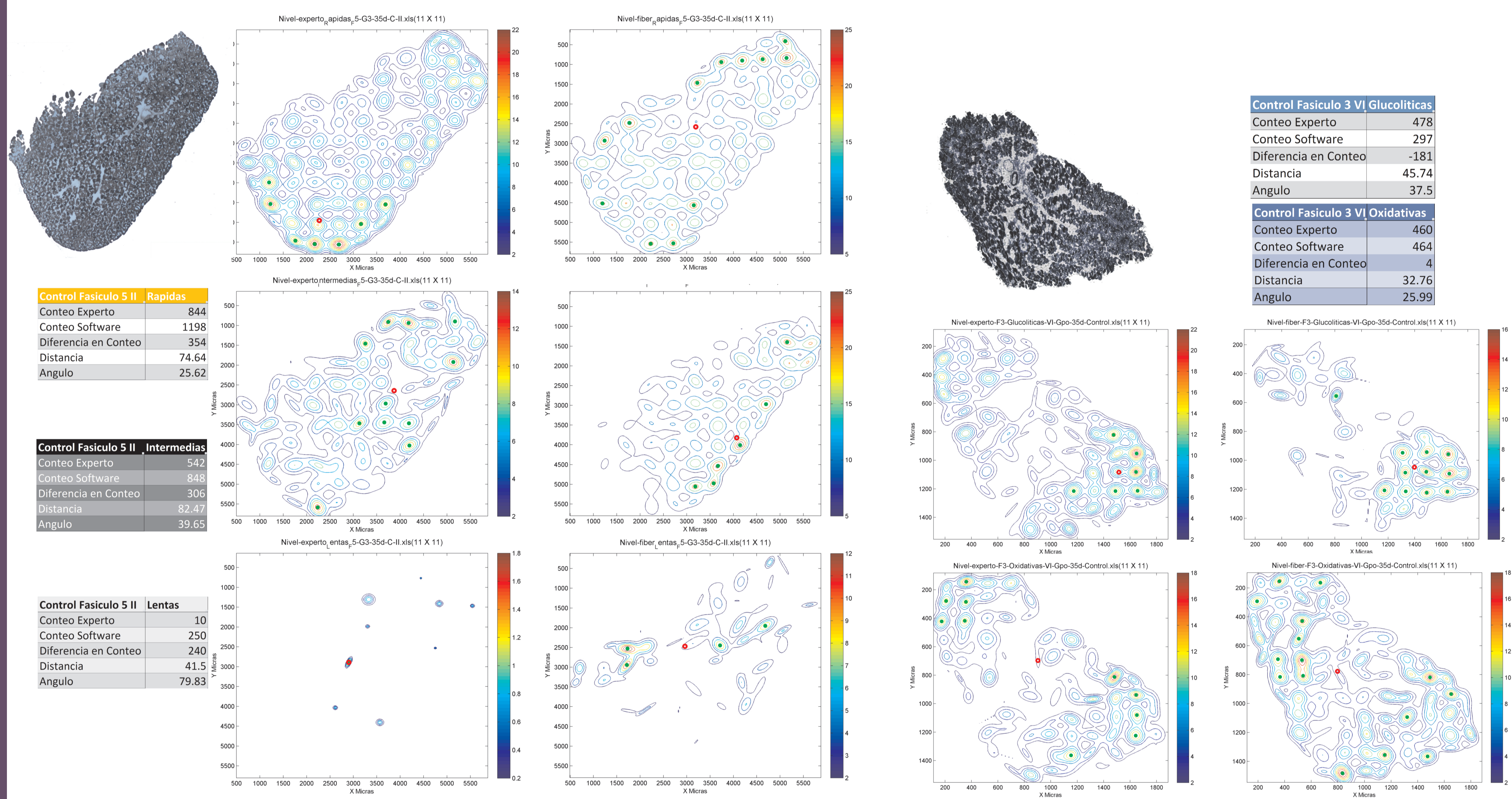
$$d_{ij}^2(f, g) = (f - g, f - g)_{ij} = \|f\|_{ij}^2 + \|g\|_{ij}^2 - 2(f, g)_{ij}. \text{ Notese que } \kappa_{i,j}(\bar{z}_{i,j}, z) = \phi_{i,j}(z)$$

y además $\|\phi_{i,j}\|_{ij}^2 = \kappa_{i,j}(\bar{z}_{i,j}, \bar{z}_{i,j}) = 1$.

Ahora consideremos las funciones de distribución con matrices de covarianza obtenidas de la unión de los conjuntos de puntos, por lo que compartirían las mismas funciones $\phi_{i,j}$

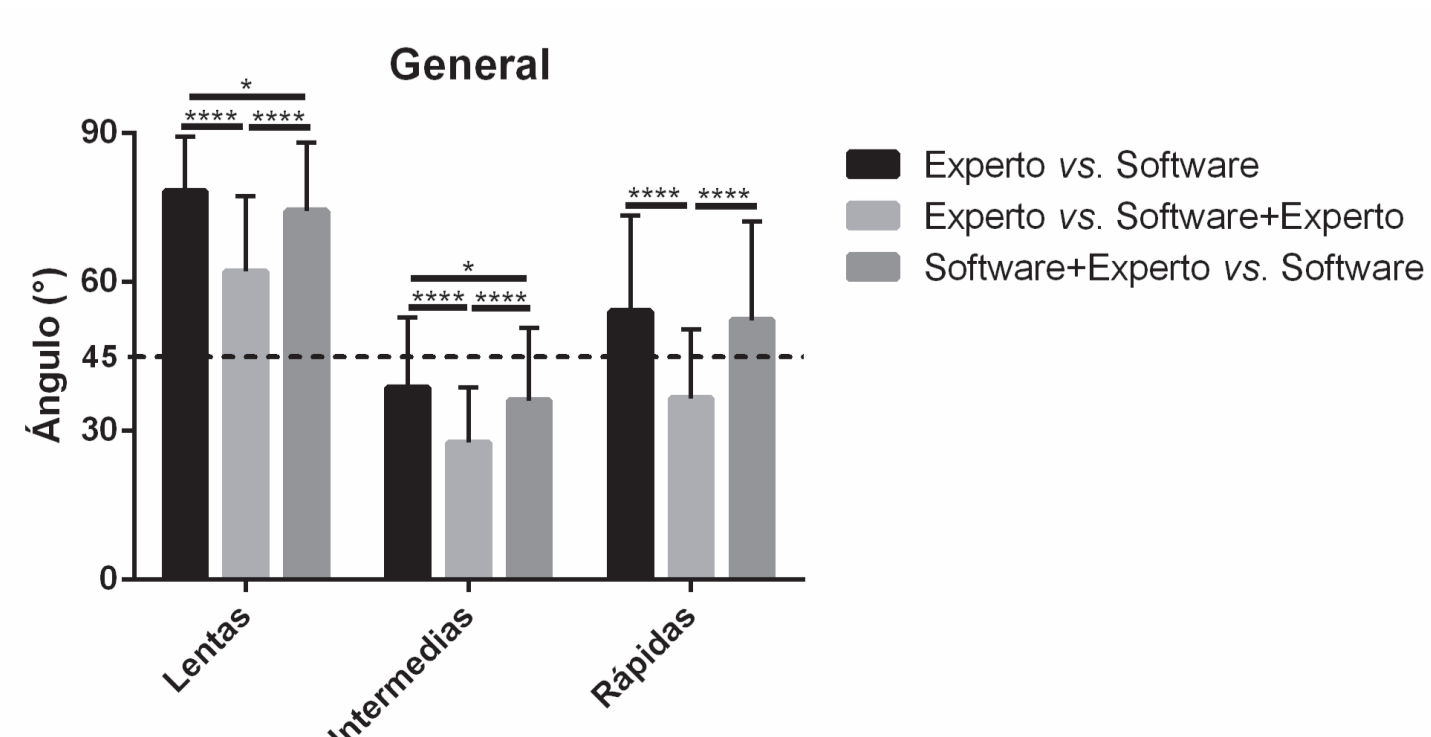
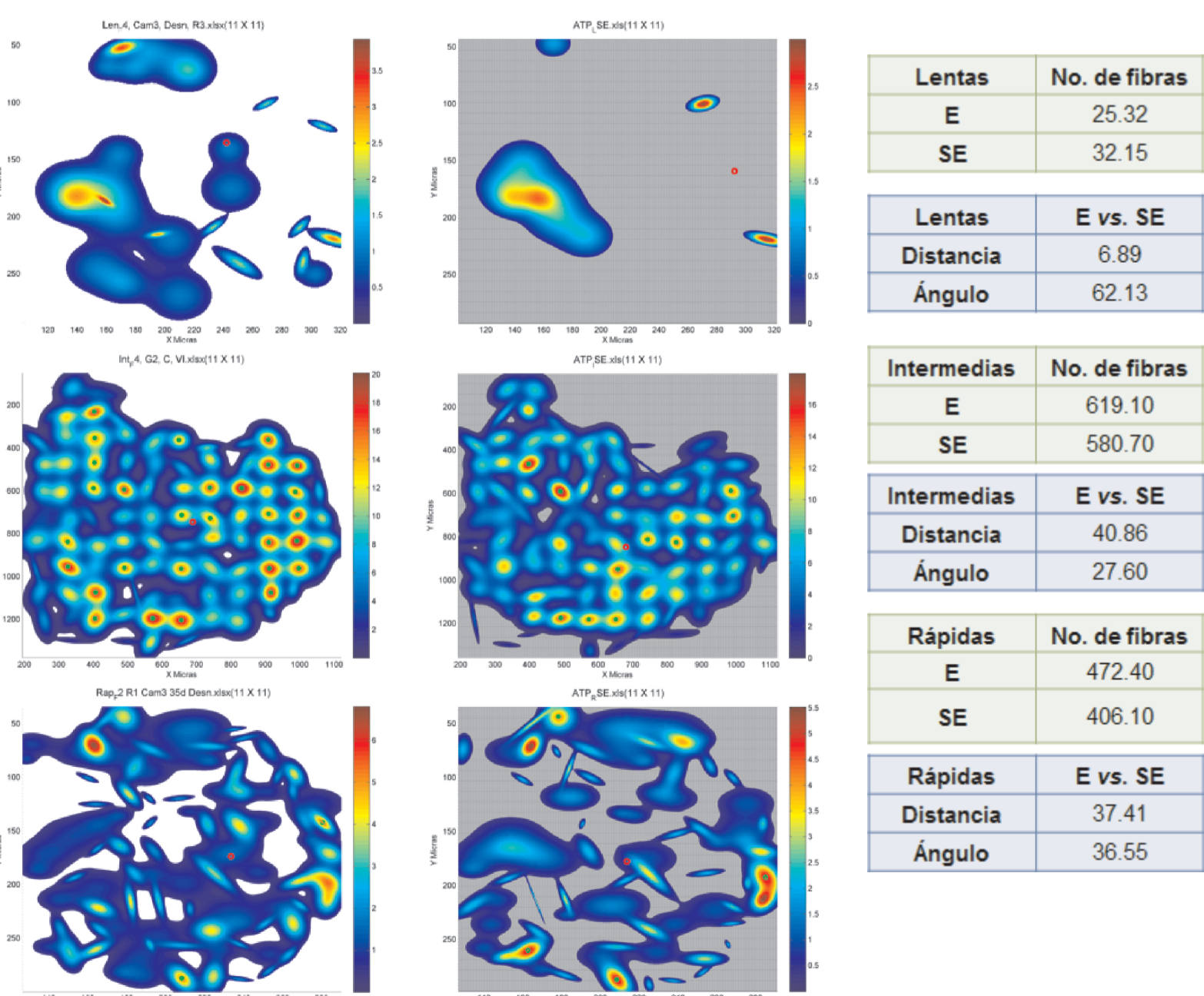
$$F(z) = \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N R_{i,j} \phi_{i,j} \text{ y } G(z) = \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N T_{i,j} \phi_{i,j} \text{ para las cuales se considera el producto interno}$$

5 Resultados Experto Vs. Software

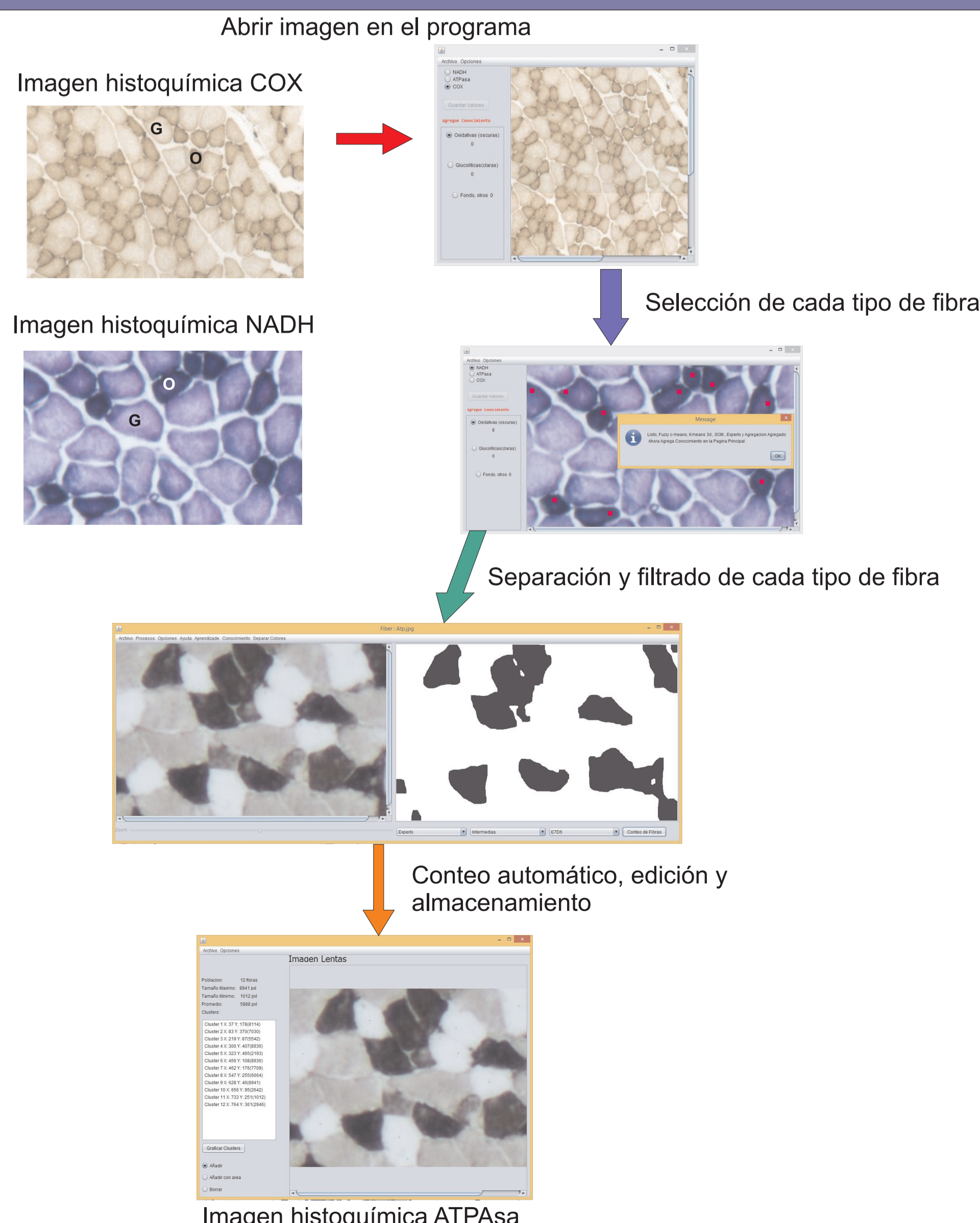


6 Resultados Experto Vs. Software + Experto

La clasificación de fibras usando el software guiado por experto ofrece resultados confiables en un menor tiempo. Es decir, usando otro software 2 horas versus Fiber 20 minutos.

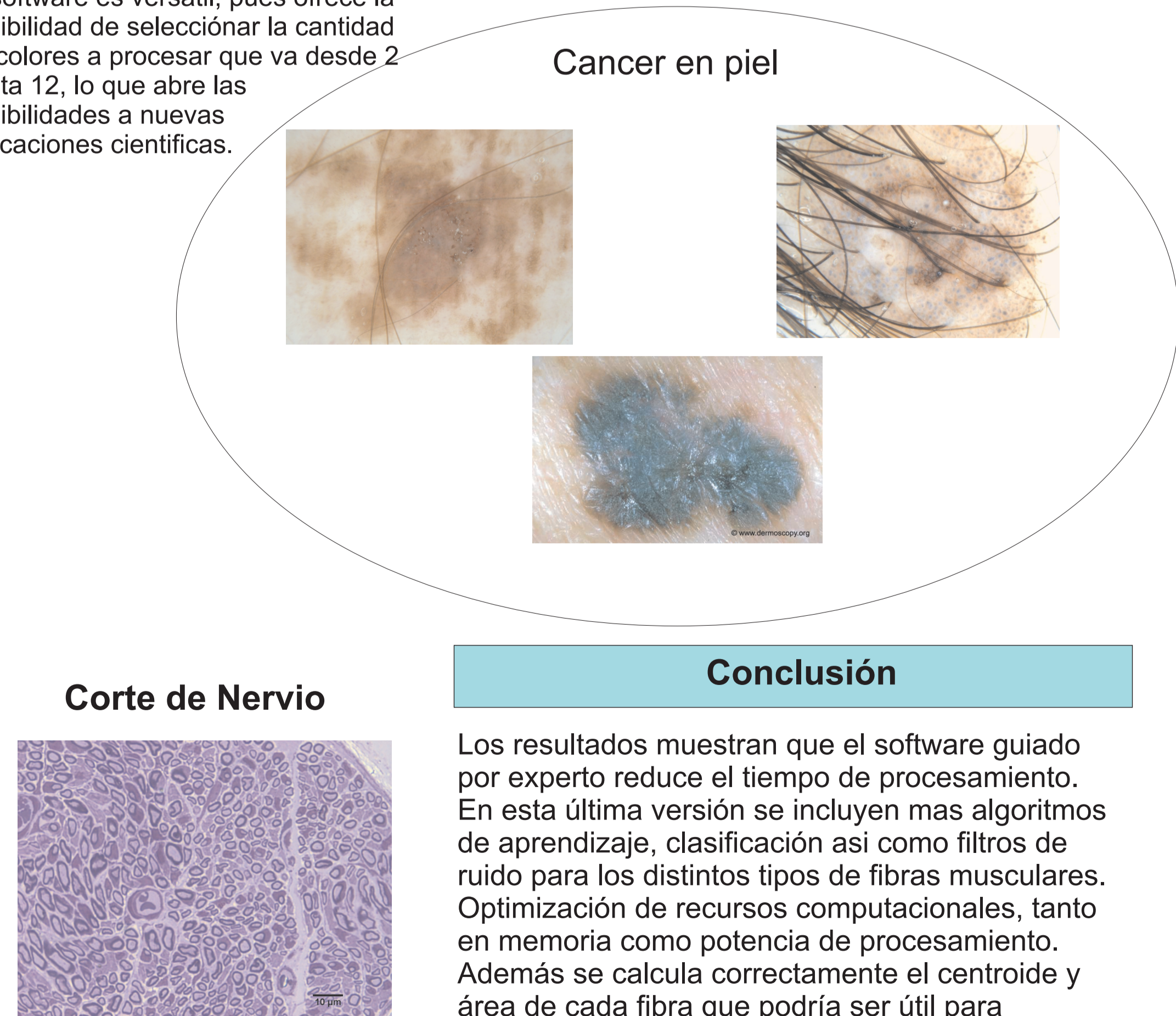


7 Actual uso del Software



9 Posibles Aplicaciones

El software es versátil, pues ofrece la posibilidad de seleccionar la cantidad de colores a procesar que va desde 2 hasta 12, lo que abre las posibilidades a nuevas aplicaciones científicas.



Conclusión

Los resultados muestran que el software guiado por experto reduce el tiempo de procesamiento. En esta última versión se incluyen más algoritmos de aprendizaje, clasificación así como filtros de ruido para los distintos tipos de fibras musculares. Optimización de recursos computacionales, tanto en memoria como potencia de procesamiento. Además se calcula correctamente el centroide y área de cada fibra que podría ser útil para determinar la fuerza ejercida por el músculo estudiado.

Estudio apoyado parcialmente por: CONACyT 265483 beca posdoctoral a KLG, SNI a ERT, KLG e IJE, donativo PROMEP-1006 a ERT y Premio Sofia Kovalévskaya a ERT.