

ESTADIFICACIÓN DE METAPLASIA INTESTINAL DE LA REGIÓN ANTRO-PILÓRICA DEL ESTÓMAGO UTILIZANDO TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO DIGITAL DE IMÁGENES



Marino Hernán Tobar Pérez

Miguel Antonio Delgado Sánchez

UNIVERSIDAD DEL CAUCA

Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación.

Programa de Ingeniería Física

Popayán

2017

ESTADIFICACIÓN DE METAPLASIA INTESTINAL DE LA REGIÓN ANTRO-PILÓRICA DEL ESTÓMAGO UTILIZANDO TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO DIGITAL DE IMÁGENES



Trabajo para optar por el título de Ingeniero Físico.

Marino Hernán Tobar Pérez

Miguel Antonio Delgado Sánchez

Director: Dr. Rubiel Vargas Cañas

Codirector: Dr. Jairo Alfonso Vásquez López

UNIVERSIDAD DEL CAUCA

Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación.

Programa de Ingeniería Física

Popayán

2017

Nota de aceptación

Director _____

Dr. RUBIEL VARGAS CAÑAS

Co-Director _____

Dr. JAIRO ALFONSO VÁSQUEZ

Jurado _____

Dra. MARIA DEL CONSUELO GÓMEZ

Jurado _____

Mg. JORGE WASHINGTON CORONEL

Lugar y fecha de sustentación: Popayán, 17 de noviembre de 2.017

TABLA DE CONTENIDO

LISTADO DE FIGURAS.....	6
LISTADO DE TABLAS.....	8
1. INTRODUCCION.....	9
1.1. OBJETIVOS.....	13
1.1.1. OBJETIVO GENERAL.....	13
1.1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
1.2. METODOLOGÍA.....	14
1.3. CONTRIBUCIONES DE LA INVESTIGACIÓN.....	15
2. MARCO TEÓRICO.....	16
2.1. EL SISTEMA DIGESTIVO Y LA DIGESTIÓN.....	16
2.1.1. BOCA.....	17
2.1.2. ESÓFAGO.....	17
2.1.3. ESTÓMAGO.....	17
2.1.4. INTESTINO DELGADO.....	20
2.1.5. INTESTINO GRUESO.....	20
2.2. <i>Helicobacter pylori</i>	20
2.2.1. <i>Helicobacter pylori</i> y el cáncer gástrico.....	22
2.2.2. Factores de riesgo relacionados a <i>Helicobacter pylori</i>	23
2.2.3. LESIONES PRECURSORAS AL CÁNCER GÁSTRICO.....	24
2.2.4. METAPLASIA INTESTINAL.....	25
2.3. DIAGNÓSTICO DE LESIONES PRECURSORAS DEL CANCER GASTRICO.....	26
2.4. PROCESAMIENTO DIGITAL DE IMÁGENES.....	28
2.4.1. ADQUISICIÓN DE IMÁGENES.....	28
2.4.2. ADECUACIÓN DE IMÁGENES (PRE-PROCESAMIENTO).....	34
2.4.3. SEGMENTACIÓN DE IMÁGENES.....	34
2.4.4. EXTRACCIÓN DE CARACTERÍSTICAS.....	36
2.5. PROCESAMIENTO DIGITAL DE IMÁGENES HISTOLÓGICAS.....	37
3. METODOLOGÍA.....	39
3.1. ADQUISICIÓN DE MUESTRAS HISTOLÓGICAS.....	39
3.2. ADECUACIÓN DE LAS IMÁGENES HISTOLÓGICAS.....	40
3.2.1. FILTRADO DE LA IMAGEN DE LA MUESTRA.....	41
3.2.2. ECUALIZACIÓN DEL HISTOGRAMA.....	41
3.2.3. SELECCIÓN DEL ESPACIO DE COLOR.....	42
3.3. SEGMENTACIÓN.....	43
3.3.1. BINARIZACIÓN.....	43
3.3.2. DETERMINACIÓN DE LA ZONA DE TRABAJO.....	47

3.3.3.	SEGMENTACIÓN DE GLÁNDULAS.....	49
3.3.4.	SEGMENTACIÓN DE NÚCLEOS CELULARES Y METAPLASIA INTESTINAL.	49
3.3.5.	REPRESENTACIÓN Y DESCRIPCIÓN.....	50
3.3.6.	RECONOCIMIENTO E INTERPRETACIÓN.....	51
3.4.	EVALUACIÓN Y DESEMPEÑO DEL SISTEMA.....	51
4.	RESULTADOS Y ANALISIS.....	52
4.1.	ADQUISICIÓN DE IMÁGENES	52
4.2.	ADECUACIÓN DE LA IMAGEN: FILTRADO.....	53
4.3.	SEGMENTACIÓN.....	54
4.3.1.	ZONA DE TRABAJO.	54
4.3.2.	SEGMENTACIÓN DE GLÁNDULAS.....	57
4.3.3.	SEGMENTACIÓN DE NÚCLEOS.	58
4.3.4.	SEGMENTACIÓN DE CÉLULAS CALICIFORMES, METAPLASIA INTESTINAL.....	60
4.3.5.	CONTEO DE GLÁNDULAS GÁSTRICAS Y CÉLULAS CALICIFORMES.	64
4.3.6.	ESTADIFICACIÓN DE ATROFIA GÁSTRICA CON METAPLASIA INTESTINAL.....	69
5.	CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.....	71
	Perspectivas futuras.....	72
	Reconocimientos.....	73
	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	74

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1.1. <i>Helicobacter pylori</i> , bacteria asociada al cáncer gástrico.....	9
Figura 1.2. Cambios de las glándulas del cuerpo gástrico por la infección de <i>H. pylori</i> . Las secciones 1, 2 y 3 indican los cambios en las glándulas de la región antral. Las secciones 4, 5 y 6 indican los cambios en las glándulas de cuerpo.....	10
Figura 1.3. OLGA vs OLGIM. Métodos de estadificación de atrofia gástrica.....	11
Figura 1.4. Modelo secuencial de procesamiento digital de imágenes [21][22].....	14
Figura 2.1. Tubo digestivo y glándulas asociadas.....	16
Figura 2.2. Anatomía del estómago.	19
Figura 2.3. Capas de la pared gástrica.....	19
Figura 2.5. Evolución de lesiones precursoras del cáncer gástrico establecida por Pelayo Correa.....	25
Figura 2.6. Imagen histológica de mucosa gástrica antral con metaplasia intestinal. Las flechas amarillas indican la presencia y forma de células caliciformes tipo intestino delgado.	26
Figura 2.7. Objetivos de cada etapa del procesamiento digital de imágenes.....	28
Figura 2.8. Representación de una imagen digital. A la izquierda una imagen real. A la derecha la discretización de la imagen, cada cuadro de la rejilla es un pixel.....	29
Figura 2.9. Imagen digital en escala de grises y su respectivo histograma.	29
Figura 2.10. Representación del espacio de color RGB.....	31
Figura 2.11. Imagen en color y su descomposición en el canal rojo, canal verde y canal azul.	31
Figura 2.13. Representación del espacio de color HSI en forma de un cono invertido.	33
Figura 2.14. Espacio de color HSV y sus tres canales, tono (H), saturación (S) y valor (V).	33
Figura 2.15. Binarización de la escena por umbralización.	35
Figura 2.16. Segmentación y etiquetado por componentes conexas.	35
Figura 2.17. Segmentación por plano de color RGB.	36
Figura 3.2. Equipo computacional utilizado en el procesamiento digital de las imágenes histológicas.....	41
Figura 3.3. Operaciones de conjunto entre dos imágenes binarias definidas sobre una matriz.....	44
Figura 3.4. (a) Imagen original (b) EE centrado con origen en el pixel izquierdo; (c) Imagen dilatada con (b); (d) EE centrado con origen en el pixel derecho; (e) Imagen dilata con (d)	45
Figura 3.5. (a) Imagen origina; (b) EE centrado con origen en el pixel izquierdo; (c) Imagen erosionada con (b); (d) EE centrado con origen en el pixel derecho (d); (e) Imagen erosionada con (d)	46
Figura 3.6. (a) Imagen original; (b) EE vecinos a 8; (c) Apertura de la imagen (a) con b; (d) EE vecinos a 4; (e) Apertura de la imagen (a) con (d).	47
Figura 3.8. Algoritmo empleado para segmentar núcleos de las células de la glándula gástrica.....	49
Figura 4.1. Mucosa gástrica con metaplasia intestinal en la que se observan las células caliciformes. Tinción de H-E con un aumento de 10X.....	52
Figura 4.2. Filtrado. (a) Sección de la imagen digital de una muestra histológica de mucosa gástrica (H-E) a 10X. (b) Filtro Gaussiano aplicado a la sección de la imagen (a) que resalta los bordes de las glándulas gástricas y sus núcleos.....	53

Figura 4.3. Binarización. (a) Imágenes originales filtradas. (b) Resultado de la binarización usando el método de OTSU. (c) Relleno de huecos en la región de interés. La flecha en color amarillo indica un artefacto, producido por desgarre en la muestra en el corte.	54
Figura 4.4. Obtención de la máscara. (a) Detección de "ruido". (b)Mascara de la zona glandular con eliminación de "ruido"	56
Figura 4.5. Segmentacion de glándulas de la mucosa gástrica. (a)Etiquetado de zona de trabajo correspondiente a las glándulas de la mucosa gástrica (b) Imagen original filtrada. (c) segmentación de glándulas de la mucosa gástrica.....	57
Figura 4.6. Realce. (a) Imagen de una glándula obtenida en la etapa anterior. (b) Contraste de (a)	59
Figura 4.7. Binarización de los núcleos celulares. (a) Imagen con una mejora de color. (b) Clúster perteneciente a los núcleos. (c) Núcleos de (b) binarizados.....	59
Figura 4.9. Binarización de las células con Metaplasia. (a) Binarización de 4.8 (c). (b) Eliminación de Pequeñas Áreas.....	61
Figura 4.10. Segmentación de las células caliciformes indicadoras de metaplasia intestinal.	63
Figura 4.11. Fallos del sistema. Las flechas rojas indican luces glandulares identificadas como metaplasia intestinal. Las flechas verdes indican las células caliciformes no segmentadas.	64
Figura 4.13. Reconocimiento y conteo de células con metaplasia. 3. (a) Reconocimiento y conteo manual de celulas con metaplasia. (b) Reconocimiento y conteo de celulas con metaplasia realizada por el sistema.	66
Figura 4.14. Curva de desempeño ROC.....	69

LISTADO DE TABLAS

Tabla 2.1. Score OLGA (Operative Link on Gastritis Assessment).....	27
Tabla 2.2. Score OLGIM (Operative Link on Gastritis Intestinal Metaplasia Assessment)	27
Tabla 3.1. Operación lógica AND utilizada en procesamiento digital de imágenes.....	47
Tabla 3.2. VALORACIÓN DEL DESEMPEÑO ROC.....	51
Tabla 3.3. VALORACION DEL COEFICIENTE KAPPA. (LANDIS Y KOCH 1977)	51
Tabla 4.1. CONTEO MANUAL DE GLÁNDULAS LESIONADAS CON METAPLASIA INTESTINAL	67
Tabla 4.2 CONTEO REALIZADO POR EL SISTEMA DE GLÁNDULAS LESIONADAS CON METAPLASIA INTESTINAL.....	68
Tabla 4.3. PORCENTAJE DE ACIERTO: CONTEO MANUAL VS CONTEO DEL SISTEMA	68
TABLA 4.4 MATRIZ DE CONFUSIÓN, SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DEL SISTEMA.....	68
Tabla 4.5. DESEMPEÑO DEL SISTEMA ROC Y COEFICIENTE DE CONCORDANCIA KAPPA.....	68
TABLA 4.6. PORCENTAJE DE GLÁNDULAS GÁSTRICAS AFECTADAS POR METAPLASIA INTESTINAL.	69
Tabla 4.7. ESTADIFICACIÓN AUTOMÁTICA VS ESTADIFICACIÓN MANUAL.....	70

1. INTRODUCCION.

En la actualidad, el análisis de información proveniente de imágenes es una parte fundamental en diversos procesos que proveen un alto valor científico y social desde el punto de vista de la Medicina, la Biología, Astronomía, Geología, Fotografía, industria, seguridad, entre otros; debido a su impacto sobre la sociedad en general. Por esto, se hace necesario recurrir a las tecnologías de la informática y la comunicación, que juegan un papel crucial en la adquisición y manipulación de las imágenes, permitiendo extraer, mejorar y cuantificar características que el ojo humano no alcanza a observar[1][2], además de acelerar el proceso de identificación, interpretación y análisis[1]. En este último sentido, el procesamiento digital de imágenes ha facilitado la observación de preparados histológicos para su estudio o diagnóstico, evolucionando hacia una patología digital [3][4].

Desde los años setenta, la inflamación de la mucosa gástrica (gastritis) fue asociada con la presencia de una bacteria gramnegativa: *Helicobacter pylori* (*H. pylori*, Figura 1.1) [5]. Esta bacteria afecta aproximadamente a la mitad de la población humana, sin distinción de edad o de género, además se ha establecido que existe una relación inversa entre el grado de infección y el nivel socioeconómico de la región [6] [7]. Según un reporte realizado en Colombia en el 2003, la prevalencia de esta infección es de 69,1% [8]. En 1994, el *Helicobacter pylori* fue reconocido por la Agencia Internacional de Investigación sobre Cáncer, como causa primaria de cáncer gástrico, clasificándolo como agente cancerígeno tipo I [5] (Capítulo 2).

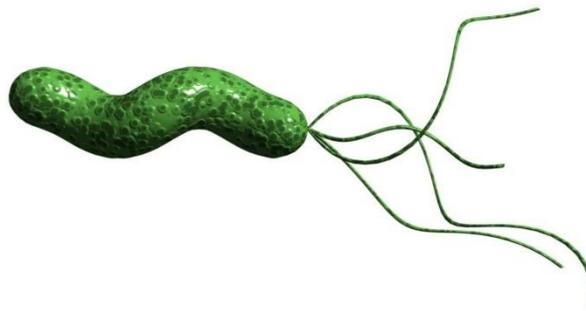


Figura 1.1. *Helicobacter pylori*, bacteria asociada al cáncer gástrico.

Como resultado de la infección con *Helicobacter pylori* se pueden observar en la mucosa gástrica (Figura 1.2): a) disminución de glándulas gástricas (atrofia glandular), b) reemplazo del epitelio gástrico normal por otro epitelio de tipo intestinal, ya sea de intestino delgado o grueso (metaplasia intestinal), c) alteración morfológica de las glándulas (displasia), d) aumento de folículos linfoides en la lámina propia Tanto la atrofia glandular como la metaplasia intestinal, se consideran lesiones premonitorias del cáncer gástrico [9].

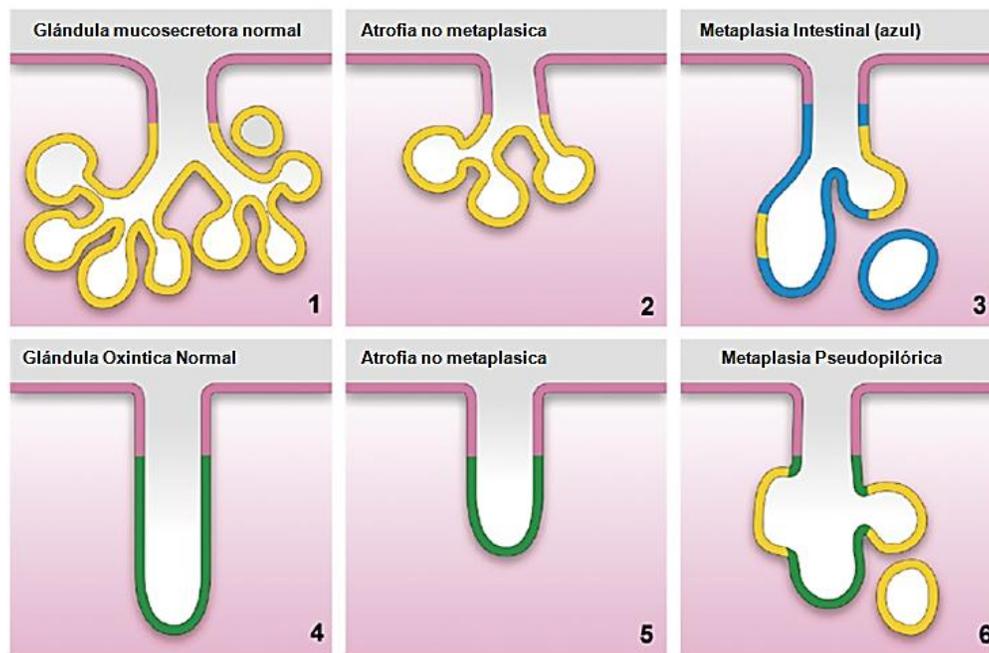


Figura 1.2. Cambios de las glándulas del cuerpo gástrico por la infección de *H. pylori*. Las secciones 1, 2 y 3 indican los cambios en las glándulas de la región antral. Las secciones 4, 5 y 6 indican los cambios en las glándulas de cuerpo.

Existen diferentes métodos de diagnóstico de la infección, los cuales pueden ser invasivos o no; entre los métodos invasivos se encuentra el diagnóstico histopatológico de los cambios de la mucosa gástrica, que se realiza mediante el análisis de la biopsia, (obtenida mediante endoscopia digestiva) y es considerada como la prueba de oro (Gold Estándar) debido a que permite establecer un diagnóstico histológico de la lesión gástrica. En la actualidad, el grupo internacional Operative Link on Gastritis Assessment

(OLGA) utiliza un sistema de estadificación para las biopsias gástricas, en el cual, la evaluación de la atrofia y la estadificación del riesgo para cáncer gástrico, se clasifican en grupos de 0-IV, siendo el III y IV [10] los que tienen mayor riesgo y ameritan vigilancia. Además se han desarrollado otros sistemas para la estadificación de las lesiones de la mucosa gástrica como el sistema OLGIM, que se basa en la metaplasia intestinal en lugar de la atrofia gástrica (Figura 1.3) [10][11].

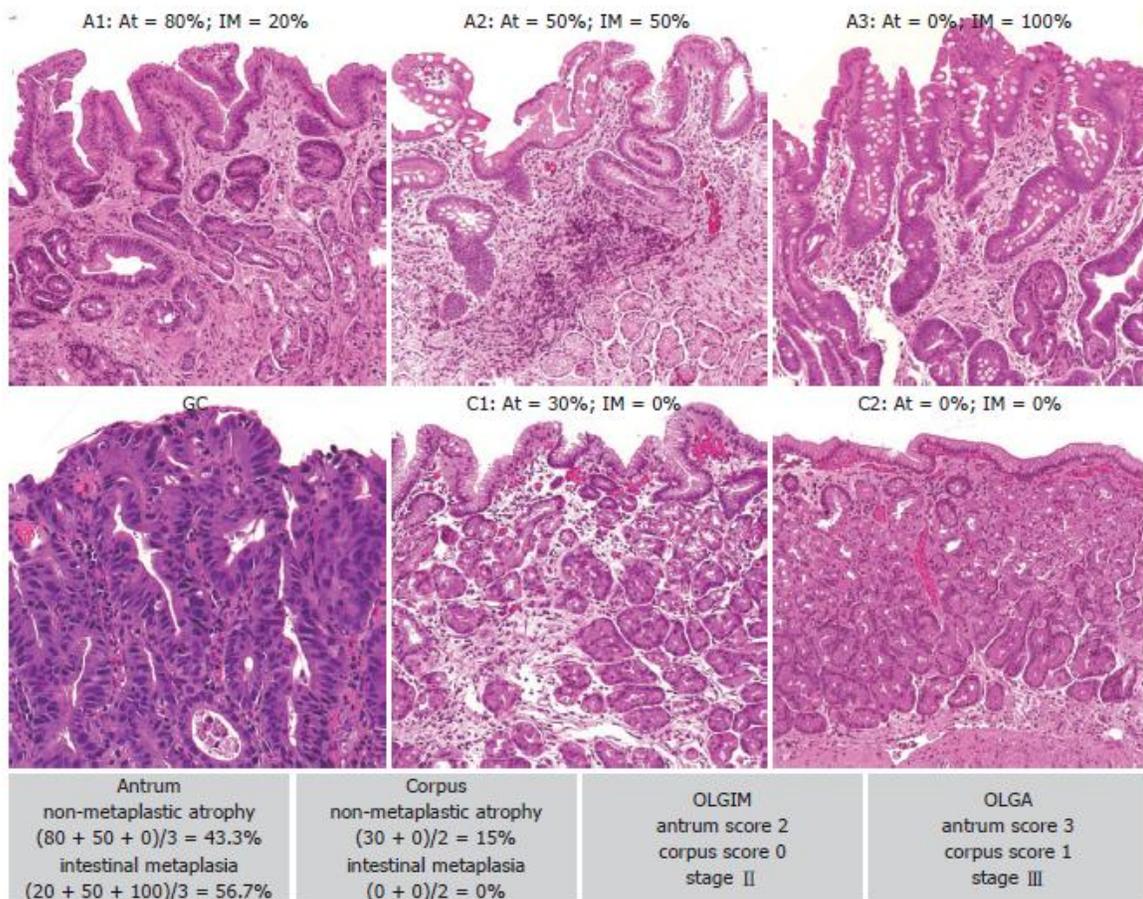


Figura 1.3. OLGA vs OLGIM. Métodos de estadificación de atrofia gástrica.

De acuerdo con muchos estudios [8][9][10][11][12], ha sido posible establecer que, debido a la subjetividad de los métodos de estadificación, existe disparidad de criterios a la hora de la estadificación de las lesiones de la mucosa [8], evidenciándose un fenómeno denominado “variabilidad inter- e intra-observador”, con el fin de contrarrestar dicha

variabilidad se ha recurrido a la utilización de técnicas de visión artificial, apoyados en herramientas computacionales que permiten la valoración histológica de la mucosa gástrica y ofrecen la posibilidad de cuantificar parámetros morfométricos; lo cual, ha sido demostrado en diferentes estudios: Rubio y Cols.[13] en 1988, cuantificaron áreas de metaplasia intestinal en la mucosa gástrica; Khanna [14] en 1988, evidenció cambios en el espesor y el número de glándulas, mediante el conteo de puntos; McCormick y Cols [15] en 1991, realizaron estudios endoscópicos y morfométricos asistido por computador en pacientes con gastropatía congestiva; Matalka y cols en 2007, determinaron características morfológicas para discriminar de forma única el grado de atrofia, al asociar la densidad y la forma glandular y mediante tratamiento estadístico, logrando identificar el grado de la atrofia con una precisión global de 95,6 % [16]. De acuerdo a los estudios mencionados, con técnicas de visión artificial se ha cuantificado sobre la mucosa gástrica parámetros morfométricos, áreas con metaplasia y detectado cambios en las glándulas, sin embargo variables como el número de células caliciformes y su relación con las glándulas afectadas (OLGIM), han sido objeto de poca investigación utilizando procesamiento digital de imágenes.

Considerando la distribución geográfica, los habitantes de las zonas montañosas de Colombia, son los más susceptibles a desarrollar cáncer gástrico que los habitantes de las zonas costeras [17][18]. En la región suroccidental de nuestro país, el cáncer gástrico, es la segunda causa de mortalidad por neoplasias [19] convirtiéndose en un gran problema para la Salud pública, donde la mayoría de los pacientes son diagnosticados en estadíos avanzados, perdiéndose así una posible opción de curación. En el departamento del Cauca se presenta con mayor frecuencia el cáncer gástrico [20] de localización antral predominando la variedad histológica de adenocarcinoma tipo intestinal [19]. Por otra parte, es conocida la relación existente entre la atrofia, la metaplasia y el cáncer gástrico [9]. Sumado a lo anterior, en el diagnóstico y valoración del estadío de la atrofia gástrica y de la metaplasia intestinal, es posible, encontrar discordancias entre los histopatólogos, este hecho, se convierte en un grave problema, que puede incidir en la calidad de la atención clínica de los pacientes sospechosos de presentar este tipo de patología [12].

A fin de contribuir al mejoramiento del proceso de estadificación de la metaplasia intestinal de la región antral, ocasionada por *Helicobacter pylori*, se plantea el diseño y construcción de un sistema de visión por computador, que está basado en el procesamiento de imágenes digitales y la discriminación de algunas características morfológicas del sistema OLGIM, el cual podría constituirse en una herramienta cuantitativa, que ayude a los patólogos a realizar el diagnóstico de este tipo de lesiones, disminuyendo la variabilidad interobservador.

1.1. OBJETIVOS.

1.1.1. OBJETIVO GENERAL.

Desarrollar un sistema de visión artificial capaz de cuantificar el grado de metaplasia intestinal en imágenes digitales obtenidas de biopsias del antro pilórico, con el fin de asistir a los histopatólogos, en la estadificación y diagnóstico de las lesiones de la mucosa gástrica (ocasionadas por *Helicobacter pylori*), tomando como referente el sistema OLGIM.

1.1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Cuantificar la cantidad de células caliciformes y la cantidad de glándulas una muestra de mucosa gástrica del antro pilórico.
- Establecer la relación existente entre las células caliciformes con el número las glándulas afectadas en la mucosa gástrica lesionada.
- Determinar, de manera asistida, el puntaje de metaplasia intestinal en la mucosa gástrica del antro pilórico tomando como referente el sistema OLGIM.
- Evaluar el conteo de glándulas afectadas con metaplasia intestinal a partir del desempeño del sistema y compararla con el diagnóstico realizado por expertos, para determinar el grado de validez y concordancia de la herramienta.

1.2. METODOLOGÍA.

Para dar cumplimiento a los objetivos, se diseñó una metodología tomando como referente el modelo secuencial del procesamiento digital de imágenes (Figura 1.4) [2].

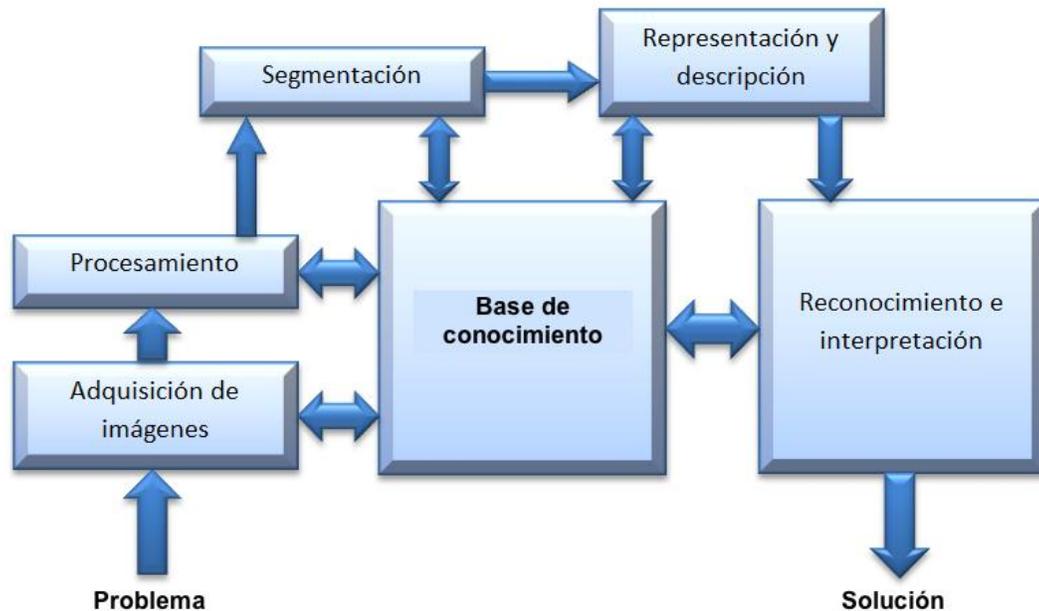


Figura 1.4. Modelo secuencial de procesamiento digital de imágenes [21][22].

El proceso inicia con la adquisición de imágenes histopatológicas de mucosa gástrica en las cuales hay *Helicobacter pylori* y gastritis crónica con metaplasia intestinal; obtenidas de las biopsias vía endoscópica suministradas por el Laboratorio de Patología del Hospital Universitario San José de la ciudad de Popayán y con la colaboración del Departamento de Morfología de la Facultad de Salud de la Universidad del Cauca (CAPITULO 3). Luego, se realiza la adecuación de las imágenes histológicas con el objetivo de aumentar la calidad de estas, aplicando filtros y operaciones morfológicas para realizar una apropiada segmentación de la zona de interés, posteriormente obtener los parámetros que permitirán estadificar la lesión sobre la mucosa gástrica, el número de glándulas y el número de células caliciformes tomando como referente el sistema OLGIM (CAPITULO 4).

1.3. CONTRIBUCIONES DE LA INVESTIGACIÓN.

Contribuciones nacionales:

- “Automatización de un microscopio óptico convencional para uso en docencia, diagnóstico e investigación”, E.J. Caldon, M.H. Tobar, R. Vargas Cañas, J.A. Vasquez-Lopez. IV Congreso Nacional de Ingeniería Física 2014, Popayán-Colombia
- “Implementación de microscopio óptico virtual mediante interpolación digital de imágenes: una herramienta para el aprendizaje de histología humana”, E.J. Caldon, M.H. Tobar, R. Vargas Cañas, J.A. Vasquez-Lopez. IV Congreso Nacional de Ingeniería Física 2014, Popayán-Colombia

Contribuciones internacionales.

- “Identificación de células metaplásicas de la mucosa gástrica utilizando técnicas de procesamiento digital de imágenes”, M.A. Delgado Sánchez, M.H. Tobar, R. Vargas Cañas, J.A. Vasquez-Lopez. VII Congreso Latinoamericano De Ingeniería Biomédica 2016, Bucaramanga-Colombia.
- “Implementación de una nueva aplicación digital para potenciar entornos de aprendizaje de las ciencias básicas medicas”, E.J. Caldon, M.H. Tobar, R. Vargas Cañas, J.A. Vasquez-Lopez. VI Congreso Latinoamericano De Ingeniería Biomédica 2014, Paraná-Argentina.
- “Generación de esquemas de estudio para el estudio de la histología humana mediante procesamiento digital de imágenes: una nueva opción didáctica”, VI Congreso Latinoamericano De Ingeniería Biomédica 2014, Paraná-Argentina.

2. MARCO TEÓRICO.

2.1. EL SISTEMA DIGESTIVO Y LA DIGESTIÓN.

El sistema digestivo está formado por el tubo digestivo y sus órganos asociados principales, entre ellos, la lengua, los dientes, las glándulas salivales, el páncreas, el hígado y la vesícula biliar. [23] Los órganos que forman el tubo digestivo son la boca, el esófago, el estómago, el intestino delgado, el intestino grueso (también llamado colon), el recto y el ano (Figura 2.1). El interior de estos órganos huecos está revestido por una membrana llamada mucosa. La mucosa de la boca, el estómago y el intestino delgado contiene glándulas que producen jugos que contribuyen a la digestión de los alimentos.[24].

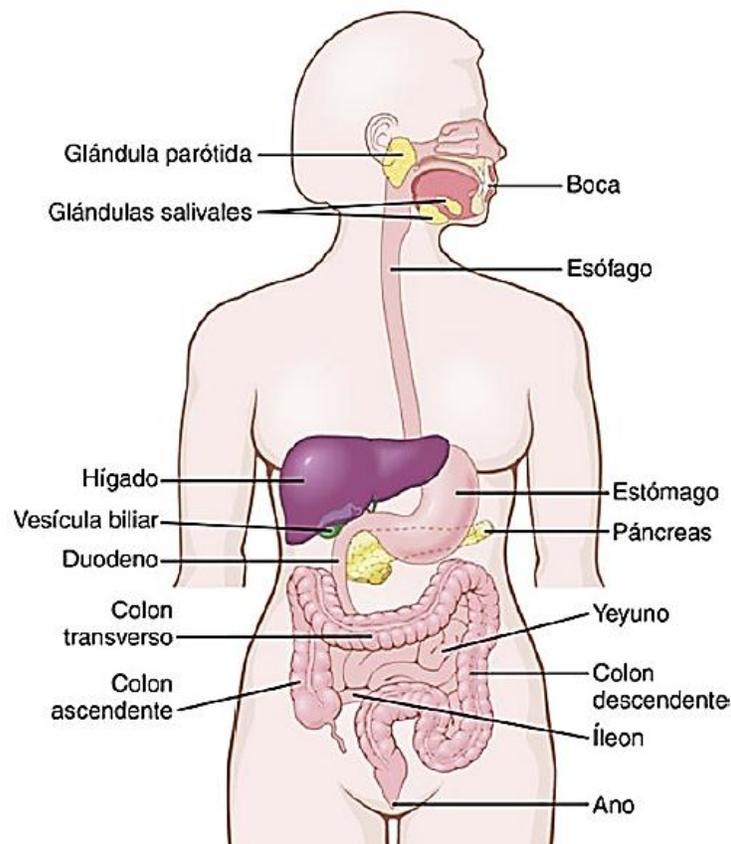


Figura 2.1. Tubo digestivo y glándulas asociadas

Las principales funciones del sistema digestivo comprenden el transporte de agua y alimentos ingeridos a través del tubo digestivo; la secreción de líquidos, electrolitos y enzimas digestivas; la digestión y la absorción de los productos digeridos y la excreción de los detritos no digeribles [23]. Al pasar por el tubo digestivo, los alimentos se procesan física y bioquímicamente, para que los productos de esa degradación puedan ser absorbidos y metabolizados por el organismo. Los diferentes segmentos del tubo digestivo están especializados para cumplir con los diferentes procesos específicos de la digestión y la absorción de nutrientes [23] [25]. Las principales partes del Sistema digestivo son:

2.1.1. BOCA.

La digestión inicia en la boca con el procesamiento mecánico (masticación) y químico de los alimentos. La saliva segregada por las glándulas salivales se mezcla con el contenido alimenticio, lo que facilita la masticación y además la formación del bolo alimenticio, que posteriormente avanzará hacia el esófago. La saliva contiene enzimas que inician la digestión de almidón y grasas, gracias a la producción de la enzima salival alfa amilasa y la lipasa. [26]

2.1.2. ESÓFAGO.

El esófago recibe el bolo alimenticio tras la fase bucofaríngea de la deglución[26], conduce sólidos y líquidos desde la faringe hacia el estómago[23], impulsados por los movimientos peristálticos. La longitud del esófago es de unos 25cm aproximadamente[23], con trayecto intra-toraxico. En su segmento inferior el esófago finaliza con el esfínter del cardias, el cual lo conecta con el estómago.

2.1.3. ESTÓMAGO.

El estómago es un segmento dilatado y especializado del tracto digestivo, localizado en la parte superior del abdomen. Tiene forma de “jota” con dos orificios: esofágico y pilórico; dos curvaturas: mayor y menor y dos superficies una anterior y otra posterior.

El estómago recibe el bolo de alimento macerado desde el esófago. La mezcla del contenido alimenticio se digiere parcialmente en el estómago por la acción de sus

secreciones gástricas, producen una mezcla denominada quimo. El quimo entonces pasa al intestino delgado para continuar el proceso de digestión y absorción. [23]

El estómago cumple con las siguientes funciones motoras:

- Almacenamiento de grandes cantidades de alimentos hasta que puedan ser procesados en el estómago, el duodeno y el resto del intestino.
- Mezcla de estos alimentos con las secreciones gástricas hasta formar una papilla semilíquida llamada *quimo*.
- Vaciamiento lento del quimo desde el estómago al intestino delgado a un ritmo adecuado para que este último pueda digerirlo y absorberlo correctamente. [25]

Anatómicamente el estómago presenta cuatro regiones (Figura 2.2.): (1) Región del cardias, es la zona vecina al orificio del cardias, sitio de apertura del esófago. (2) Región del Fórnix (o fundus gástrico), se encuentra relacionado con el cardias y situado hacia la izquierda. Esta región generalmente se encuentra llena de aire y es separada del esófago por la incisura cardíaca o angular de His. (3) Región del cuerpo, Es la zona de mayor extensión ubicada entre el cardias y el píloro. Tiene paredes anterior y posterior, dos curvaturas: mayor y menor. (4) Región pilórica, se subdivide en tres porciones: a) Antro pilórico: es la zona amplia y vecina a la terminación del cuerpo. b) Conducto pilórico: es un estrechamiento que termina en el píloro. c) Píloro: es el orificio que está delimitado por el esfínter pilórico, y comunica hacia la primera porción del duodeno o bulbo duodenal. [23][25][27].

Desde el punto de vista histológico el estómago se divide en tres regiones: (1) Región cardinal (cardias), la parte cercana al orificio esofágico que contiene las glándulas cardiales. (2) Región pilórica (antro), la parte proximal con respecto al esfínter pilórico que contiene las glándulas pilóricas o antrales. (3) Región fúndica (fundus), la porción más extensa del estómago, que está situada entre el cardias y el antro pilórico, contiene a las glándulas fúndicas o gástricas. [23][27]. Las glándulas gástricas están conformadas por tres regiones: el istmo, en la vecindad de las fosetas; el cuello y la base, en la región profunda, relacionados con la muscular de la mucosa [28].

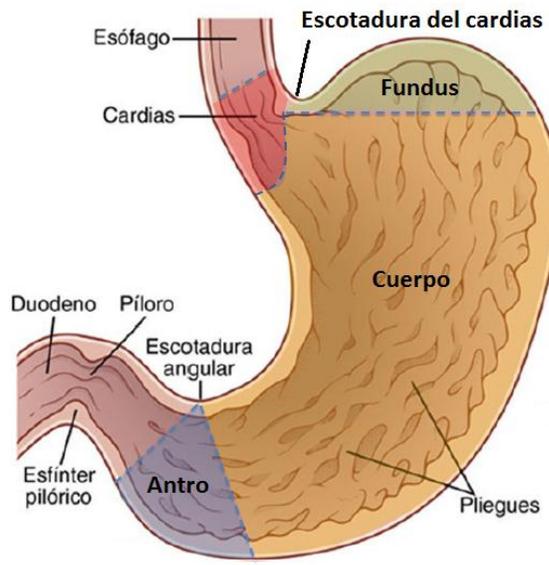


Figura 2.2. Anatomía del estómago.

2.1.3.1. PARED GÁSTRICA.

La pared del estómago conserva la misma estructura en cuanto a sus capas, que desde la cavidad gástrica hacia la superficie, se encuentran: (a) mucosa, (b) submucosa, (c) muscular y (d) serosa (Figura 2.3). La superficie de la cavidad gástrica del estómago vacío presenta pliegues longitudinales o arrugas gástricas, que sirven para adaptar las capas luminales a la expansión y el llenado de la cavidad gástrica. [23]

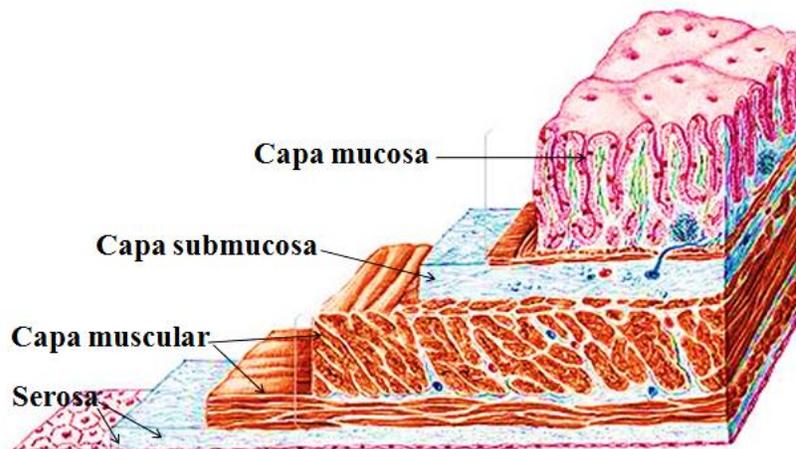


Figura 2.3. Capas de la pared gástrica.

2.1.4. INTESTINO DELGADO.

Es el componente más largo del tubo digestivo; con una extensión de aproximadamente seis metros y se divide en tres porciones anatómicas:

- El duodeno (25 cm de longitud) es la primera porción, la más corta y ancha del intestino delgado. Se inicia como continuación de la región pilórica del estómago y termina en el ángulo duodeno-yeyunal.
- El yeyuno (2,5 m de longitud) Es la continuación del duodeno y constituye las dos quintas partes proximales del intestino delgado. Cambia sus características histológicas de forma gradual hasta convertirse en el íleon.
- El íleon (3,5 m de longitud) es la continuación del yeyuno y constituye las tres quintas partes distales del intestino delgado. Termina en la válvula ileocecal, que corresponde a la unión del íleon distal y el ciego.

El intestino delgado es el sitio principal para la absorción de nutrientes resultantes del proceso de la digestión. [23].

2.1.5. INTESTINO GRUESO.

El intestino grueso comprende el ciego con su apéndice vermiforme, el colon, el recto y el conducto anal. En el colon se encuentran cuatro regiones: colon ascendente, colon transversal, colon descendente y colon sigmoide. La función principal del intestino grueso es darle consistencia sólida a la materia fecal mediante la absorción de agua y electrolitos [23].

2.2. *Helicobacter pylori*.

El *Helicobacter pylori* (Figura 2.4), es una bacilo Gram negativo, que mide aproximadamente de 2,5 a 4 micras de largo por 0,5 a 1,0 micras de ancho, presenta de 2 a 6 flagelos lofótricos, que lo dotan de una gran movilidad, normalmente habita en la mucosa gástrica y se considera responsable de más del 80 % de las gastritis crónicas [29], lo cual puede llevar a la pérdida de glándulas del estómago (gastritis crónica

atrófica) y al reemplazo del epitelio normal por otro tipo de epitelio (metaplasia intestinal), eventos que predisponen al cáncer gástrico [30]. El microorganismo en la mucosa gástrica produce varios factores solubles, entre los que se encuentran:

i) la ureasa que hidroliza la urea presente en las células epiteliales en dióxido de carbono (CO_2) y gas amonio (NH_4), el CO_2 expirado en el aire exhalado sirve para diagnosticar la infección y el NH_4 forma una “nube” de pH neutro que permite al *H. pylori* la colonización del estómago en el medio ácido e inducir daño en las células del epitelio gástrico,

ii) dos genes polimorfos: la toxina citotóxica la define el gen llamado *cagA* (*cytotoxin associated gene*) que hace parte de un conjunto de aproximado 40 genes denominados la “isla de capacidad patógena”, que no está presente en todas las cepas y la toxina vacuolizadora está definida por el gen *vacA* (*vaculating cytotoxin*) que altera la morfología y el funcionamiento del epitelio gástrico, el aumento de la permeabilidad celular, además de permitir que sustancias como la ureasa penetren a la célula y

iii) la catalasa que permite a la bacteria resistir el ataque de las células inflamatorias del hospedero (paciente). Todas las proteínas anteriores, excepto la catalasa, son producidas por el *H. pylori* y absorbidas por el epitelio gastrointestinal, lo que desencadena un grupo de señales proinflamatorias que culminan con el reclutamiento y activación de células inflamatorias [29][9] [31].



Figura 2.4. *Helicobacter pylori* sobre la mucosa gástrica.

2.2.1. *Helicobacter pylori* y el cáncer gástrico.

Se considera que el evento que promueve el proceso precanceroso es la infección por *H. pylori* [5][6]. La conexión entre dicha infección y la patología gástrica avanzada fue realizada en Australia por el patólogo Robín Warren y el gastroenterólogo Barry Marshall, a quienes les otorgaron el Premio Nobel de Medicina y fisiología en noviembre de 2005 por estos hallazgos. Los dos investigadores premiados, aunque independientes, complementaron sus trabajos de investigación demostrando una asociación causal con la úlcera péptica y mencionaron la posibilidad de un papel en el cáncer gástrico [9][5].

En 1983, ambos investigadores, Warren y Marshall, dieron a conocer al mundo científico sus hallazgos en dos cartas enviadas, separadamente y con el mismo título, al editor de la revista *Lancet*. Warren argumentaba que había sido el primero en ver las bacterias, por lo que reclamaba su derecho a ser considerado el descubridor original. Mientras, Marshall por su parte, reclamaba su prioridad en la autoría porque había coordinado e impulsado los cultivos, el ensayo clínico y el contacto con otros microbiólogos.

Consideradas estas razones, el editor aceptó las cartas para ser publicadas con el mismo título, *Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis*, el 4 de junio de 1983. [5]

2.2.2. Factores de riesgo relacionados a *Helicobacter pylori*.

La infección con *H. Pylori* ocurre principalmente durante la infancia y se incrementa con la edad [6]. Aunque se desconoce cuál es exactamente la vía de transmisión, se ha sugerido que ocurre por contacto directo de persona a persona, por vía oral-oral, gastro-oral o fecal-oral, a través de aguas contaminadas o a partir de animales domésticos, por ejemplo: perros, gatos; así como de ovejas, borregos, etc [29].

Los países con escaso desarrollo económico, con deficiencias sanitarias o donde existe migración de regiones de prevalencia alta como: África, India, Bangladesh y Latinoamérica, muestran una prevalencia de infección de más del 80%, lo que implica una elevada tasa de gastritis, Úlcera péptica y carcinoma gástrico. Sin embargo, se ha reportado menor prevalencia en países de Norteamérica, Europa Occidental, así como en Japón y algunos países Asiáticos [5] [29][32][33].

La mayoría de los países africanos y algunas regiones costeras y de baja altitud de América Latina por lo general, tienen una alta prevalencia de infección por *H. pylori* temprano en la infancia [17]. El tipo de gastritis observado es predominantemente no atrófico con muy baja proporción de cambios metaplásicos (El enigma africano) [33]. En Colombia y Costa Rica, se han reportado tasas de cáncer gástrico mucho más bajas en poblaciones localizadas a nivel del mar, al compararse con las observadas en poblaciones ubicadas en las montañas [5][30]. Aparentemente, estas diferencias podrían vincularse con diferencias en las costumbres dietéticas y en la exposición o infestación por helmintos. Se ha reportado que las poblaciones localizadas a nivel del mar consumen mayores cantidades de pescado, vegetales y frutas frescas, y presentan mayores tasas de parasitosis intestinal por helmintos. Esta última circunstancia genera una respuesta

inmunitaria, que se vincula con la no aparición de gastritis atrófica y menor efecto antisecretor de algunas citocinas proinflamatorias [32] [33] [34].

La asociación de infección *Helicobacter pylori* con el desarrollo del carcinoma gástrico fue demostrado por estudios epidemiológicos de prevalencia y caso-control. Aunque inicialmente faltaban datos experimentales, las observaciones epidemiológicas fueron tan demostrativas que, en 1994, la Agencia Internacional de Investigaciones Sobre el Cáncer (IARC) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) clasificó a *Helicobacter pylori* como un agente cancerígeno tipo I. [5] [31], por lo cual se considera el *H. Pylori* como causal del cáncer gástrico con evidencia suficiente demostrada.

2.2.3. LESIONES PRECURSORAS AL CÁNCER GÁSTRICO.

Pelayo Correa fue el primero en describir la historia natural del cáncer gástrico de tipo intestinal en sus estudios clásicos en la Unión (Nariño, Colombia) [9]. De acuerdo con su modelo aceptado mundialmente (Figura 2.5), el adenocarcinoma gástrico tipo intestinal, se inicia como un proceso en cascada, que va desde la gastritis crónica, seguido de atrofia glandular, metaplasia intestinal, displasia hasta finalmente el adenocarcinoma. Sin embargo, este modelo no puede aplicarse en todos los casos de manera rutinaria. El estudio patológico de las biopsias gástricas endoscópicas constituye un recurso excelente para el diagnóstico de la gastritis y la visualización del *H. pylori*. Los hallazgos derivados de su estudio se consideran esenciales en el manejo clínico de los pacientes [9] [32].

Aunque muchos sujetos con colonización gástrica de *H. pylori* son asintomáticos, los que buscan atención médica pueden presentar acidez estomacal, dispepsia, náuseas, vómitos o halitosis. La infección implica inicialmente el antro y eventualmente puede diseminarse proximalmente al corpus. La infección prolongada y severa puede resultar en formación de úlceras y / o pérdida de tejido glandular (atrofia).

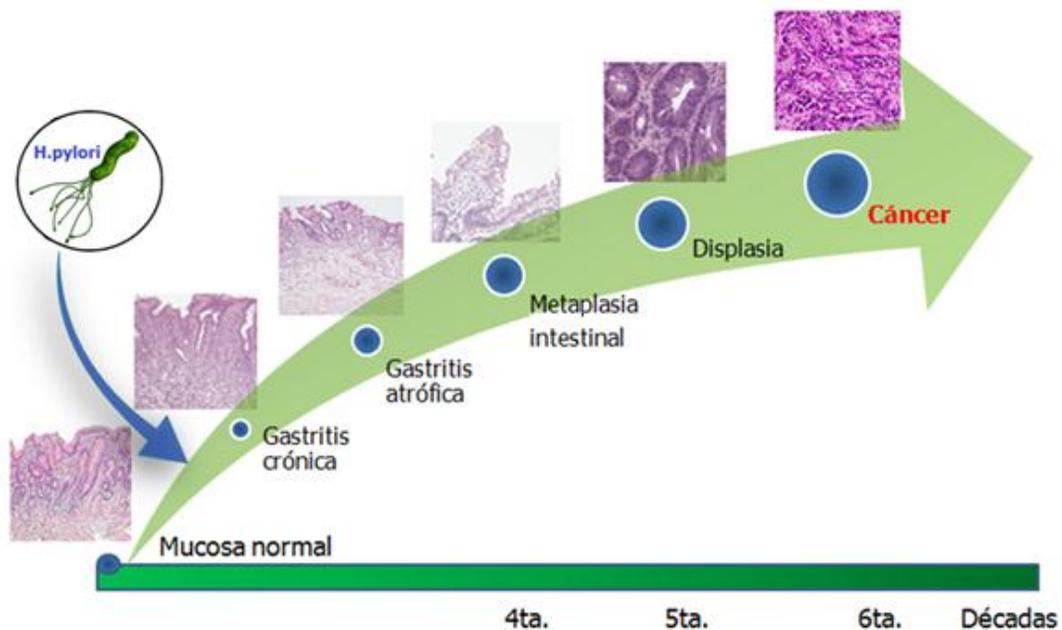


Figura 2.5. Evolución de lesiones precursoras del cáncer gástrico establecida por Pelayo Correa.

Los sujetos que desarrollan úlceras duodenales no tienen un riesgo cáncer gástrico. Por el contrario, los sujetos con úlceras gástricas típicamente tienen gastritis atrófica y alto riesgo de cáncer gástrico. Algunos pacientes con gastritis desarrollan metaplasia intestinal, y un porcentaje muy pequeño de ellos eventualmente progresará más a la displasia y adenocarcinoma invasivo. Menos del 1% de los sujetos infectados desarrollarán cáncer gástrico. El denominado adenocarcinoma de tipo intestinal es más frecuente en poblaciones que presentan altas tasas de incidencia de cáncer gástrico y es la etapa final de un proceso multifactorial en el que los factores ambientales (infección por *H. pylori*, dieta y tabaquismo) parecen tener más papel etiopatogénico importante [33].

2.2.4. METAPLASIA INTESTINAL.

La metaplasia intestinal es un evento patológico en el cual el epitelio de la mucosa gástrica es remplazado por un epitelio histológicamente similar al de la mucosa intestinal (Figura 2.6) [23]. Actualmente estos hallazgos son determinados por el medico

patólogo mediante la valoración de la biopsia de mucosa gástrica previa endoscopia digestiva.



Figura 2.6. Imagen histológica de mucosa gástrica antral con metaplasia intestinal. Las flechas amarillas indican la presencia y forma de células caliciformes tipo intestino delgado.

2.3. DIAGNÓSTICO DE LESIONES PRECURSORAS DEL CANCER GASTRICO.

Existen diferentes métodos de diagnóstico de la infección con *H. pylori*, los cuales pueden ser invasivos o no; entre los métodos invasivos se encuentra el diagnóstico histopatológico de los cambios de la mucosa gástrica, que se realiza mediante el análisis de la biopsia, (obtenida mediante endoscopia digestiva) y es considerada como la prueba de oro (Gold Estándar) debido a que permite establecer un diagnóstico histológico de la lesión gástrica. En la actualidad, el grupo internacional Operative Link on Gastritis Assessment (OLGA) utiliza un sistema de estadificación para las biopsias gástricas (Tabla 2.1), en el cual, la evaluación de la atrofia y la estadificación del riesgo para cáncer gástrico, se clasifican en grupos de 0-IV, siendo el III y IV [10] los que tienen mayor riesgo y ameritan vigilancia. Además se han desarrollado otros sistemas para la estadificación de las lesiones de la mucosa gástrica como el sistema OLGIM (Tabla 2.2), que se basa en la metaplasia intestinal en lugar de la atrofia gástrica [10][35].

Tabla 2.1. Score OLGA (Operative Link on Gastritis Assessment)

PUNTAJE DE ATROFIA		CUERPO			
		sin atrofia (puntaje 0)	atrofia leve (puntaje 1)	atrofia moderada (puntaje 2)	atrofia severa (puntaje 3)
ANTRO	sin atrofia (puntaje 0) incluyendo incisura angularis	Estadio 0	Estadio I	Estadio II	Estadio II
	atrofia leve (puntaje 1) incluyendo incisura angularis	Estadio I	Estadio I	Estadio II	Estadio III
	atrofia moderada (puntaje 2) incluyendo incisura angularis	Estadio II	Estadio II	Estadio III	Estadio IV
	atrofia severa (puntaje 3) incluyendo incisura angularis	Estadio III	Estadio III	Estadio IV	Estadio IV
sin atrofia:		0%	puntaje 0		
atrofia leve:		1-30%	puntaje 1		
atrofia moderada:		31-60%	puntaje 2		
atrofia severa:		>60%	puntaje 3		

Tabla 2.2. Score OLGIM (Operative Link on Gastritis Intestinal Metaplasia Assessment)

PUNTAJE DE METAPLASIA INTESTINAL		CUERPO			
		sin metaplasia intestinal (puntaje 0)	Metaplasia intestinal leve (puntaje 1)	Metaplasia intestinal moderada (puntaje 2)	Metaplasia intestinal severa (puntaje 3)
ANTRO	sin metaplasia intestinal (puntaje 0) incluyendo incisura angularis	Estadio 0	Estadio I	Estadio II	Estadio II
	Metaplasia intestinal leve (puntaje 1) incluyendo incisura angularis	Estadio I	Estadio I	Estadio II	Estadio III
	Metaplasia intestinal moderada (puntaje 2) incluyendo incisura angularis	Estadio II	Estadio II	Estadio III	Estadio IV
	Metaplasia intestinal severa (puntaje 3) incluyendo incisura angularis	Estadio III	Estadio III	Estadio IV	Estadio IV
sin Metaplasia:		0%	puntaje 0		
Metaplasia leve:		1-30%	puntaje 1		
Metaplasia moderada:		31-60%	puntaje 2		
Metaplasia severa:		>60%	puntaje 3		

2.4. PROCESAMIENTO DIGITAL DE IMÁGENES.

El procesamiento digital de imágenes (PDI) hace referencia a una colección de técnicas computacionales que se aplican a imágenes digitales con el fin de mejorar la calidad y/o facilitar la búsqueda de la información presente en ellas. Las etapas fundamentales de PDI son (Figura 2.7): la adquisición, el pre-procesamiento, la segmentación, la extracción de características y la identificación de objetos.



Figura 2.7. Objetivos de cada etapa del procesamiento digital de imágenes.

2.4.1. ADQUISICIÓN DE IMÁGENES.

En el procesamiento digital, el concepto de imagen está asociado a una función bidimensional $f(x, y)$, cuya amplitud o valor será el grado de iluminación (intensidad de la luz) en el espacio de coordenadas (x, y) de la imagen para cada punto. Una imagen digital también es considerada como una matriz o arreglo bidimensional o matriz de $M \times N$ (Figura 2.8) [2][1]. Cada punto de la imagen digital o del arreglo matricial $M \times N$ genera la noción de pixel, figura 1. En la memoria del computador, cada uno de los pixeles puede tener 256 valores diferentes o niveles de gris que se encuentran en el rango $[0 - 255]$, donde el 0 es el nivel de gris más bajo, corresponde a un objeto no iluminado que absorbe toda la luz que sobre él incide y adquiere una apariencia de color negro, por el contrario, el valor 255 es el nivel de gris más alto, corresponde a un objeto muy iluminado que no absorbe los rayos de luz que inciden sobre él y adquiere una apariencia de color blanco. [2][1]

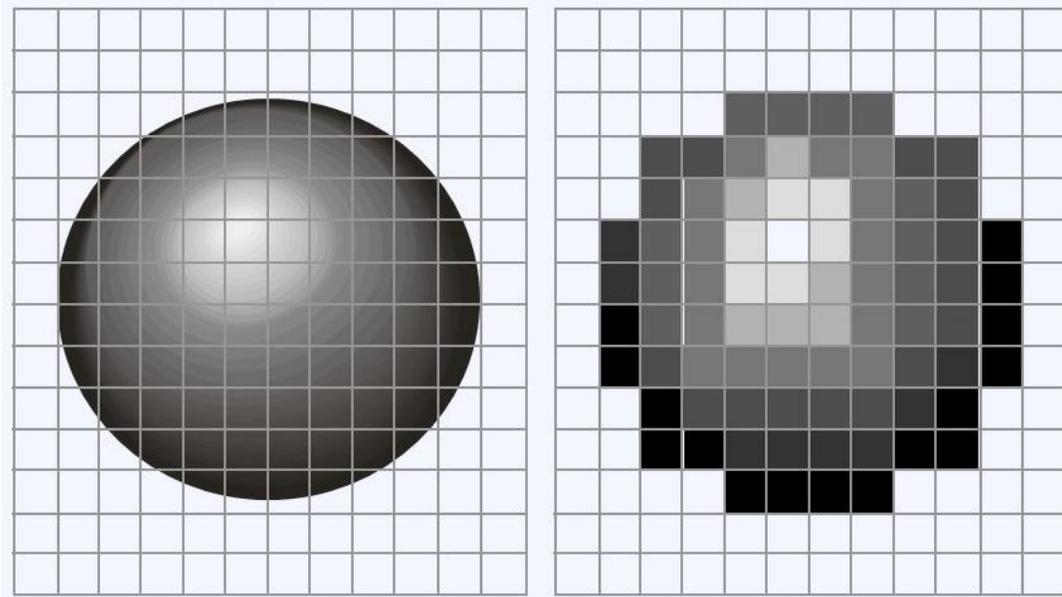


Figura 2.8. Representación de una imagen digital. A la izquierda una imagen real. A la derecha la discretización de la imagen, cada cuadro de la rejilla es un pixel.

2.4.1.1. HISTOGRAMA DE UNA IMAGEN

Para una imagen digital, cada pixel tiene un valor definido en escala de grises que varía entre 0 y 255, no obstante cada valor de ese rango puede estar en más de un pixel de la imagen. Se llama histograma de la imagen al grafico obtenido de la representación de la frecuencia de aparición de cada uno de los valores de gris en los pixeles de una imagen.

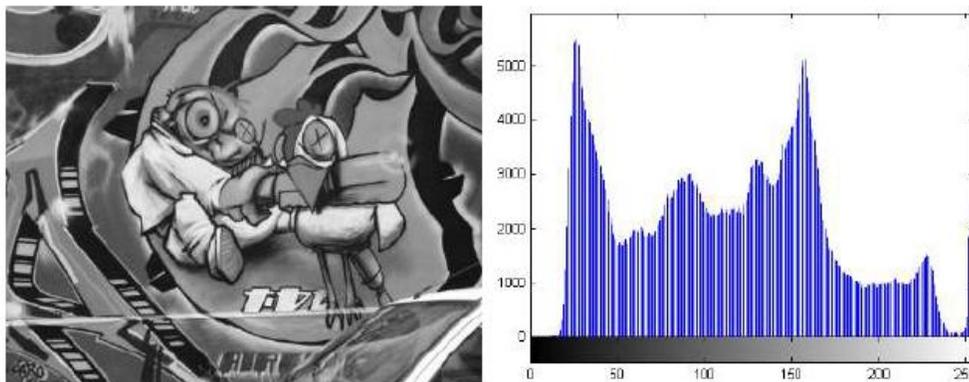


Figura 2.9. Imagen digital en escala de grises y su respectivo histograma.

En la figura 2.9 se observa una imagen digital y su correspondiente histograma, donde el valor 0 representa el negro y el 255 representa el blanco [2][1].

2.4.1.2. COLOR Y ESPACIOS DE COLOR.

El color es una de las características que aparecen con mayor frecuencia en las imágenes digitales, permite a los seres humanos identificar rasgos especiales para caracterizar elementos de una imagen, esto debido a que el sensor de luz, el ojo, capta las ondas electromagnéticas reflejada por los objetos y envía al cerebro señales que son interpretadas como información del objeto que es observado.

En imágenes digitales, un pixel ocupa una cantidad de bits en la memoria del computador, los cuales adquieren un tamaño de 8bits para cada pixel en escala de grises y 16bits para pixel color [2][1].

Para una mejor comprensión del color, se definen algunas características [1]:

- **Brillo:** es la sensación que indica si un área está más o menos iluminada.
- **Tono:** es la sensación que indica si un área es similar al rojo, amarillo, verde o azul o a una proporción de dos de ellos.
- **Colorido:** disposición y grado de intensidad de los diversos colores.
- **Luminosidad:** es el brillo de una zona respecto a otra blanca en la imagen.
- **Croma:** es el colorido de un área respecto al brillo de un blanco de referencia.
- **Saturación:** es la relación entre el colorido y el brillo.

El ser humano puede distinguir colores dependiendo de las variaciones en el tono, el brillo y la saturación que presenta un objeto. En procesamiento digital de imágenes, se utilizan diferentes espacios para representar los colores de una imagen, en ellos se puede crear, representar o visualizar cualquier color [2].

2.4.1.3. ESPACIO DE COLOR RGB.

Es un espacio de color que utiliza la variación de las cantidades del color rojo (RED), verde (GREEN) y azul (BLUE), para crear y representar distintos colores X mediante la combinación o mezcla aritmética ($X = R + G + B$) [2][1].

Cada color del espacio RGB es un punto de una representación de tres dimensiones, que pertenecen a la superficie o al interior de un cubo (Figura 2.10).

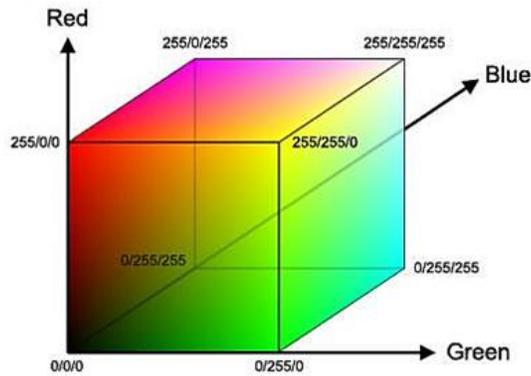


Figura 2.10. Representación del espacio de color RGB

Una imagen en color se puede descomponer en sus tres canales elementales, canal rojo canal verde y canal azul. A continuación se presente una imagen (Figura 2.11) en color y su respectiva descomposición en el espacio de color RGB [1].

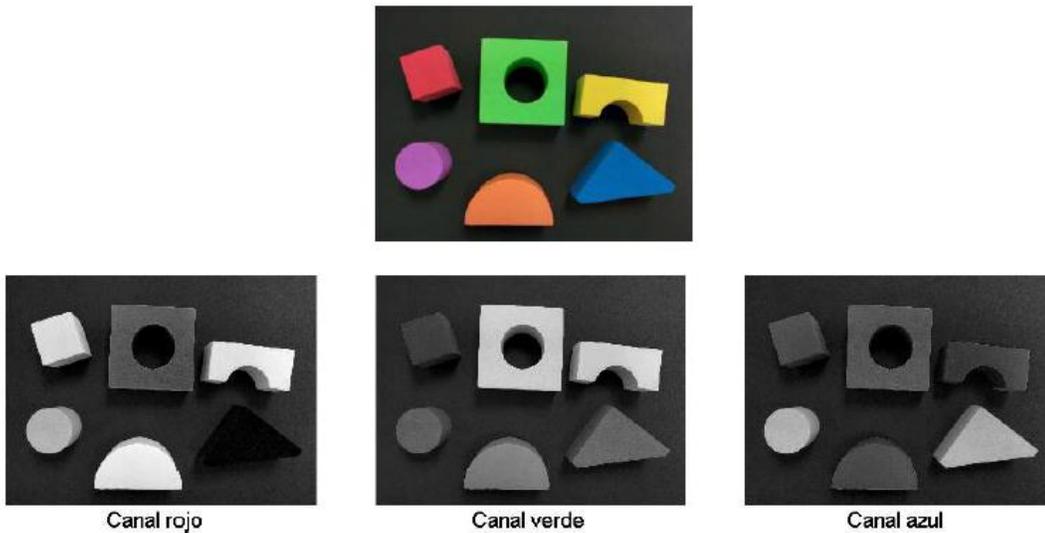


Figura 2.11. Imagen en color y su descomposición en el canal rojo, canal verde y canal azul.

2.4.1.4. ESPACIO DE COLOR HSI.

El espacio de color HSI se basa en el modo de percibir los colores que tiene el ser humano. Este espacio caracteriza el color en función del tono o tinte (HUE), saturación (SATURATION) y brillo (INTENSITY). Mediante el espacio HSI, es posible segmentar colores basándose en el tono, una luz verde y otra roja se distinguen por su distinto tono que representa la longitud de onda de ese color, sin necesidad de acudir a la intensidad lumínica. La componente de saturación permite distinguir la blancura del color. La transformación matemática del espacio de color RGB al espacio HSI se consigue a través de las siguientes expresiones [2][1]:

$$I = \frac{R + G + B}{3} \quad (2.1)$$

$$H = \frac{\sqrt{3}(G - B)}{(R - G) + (R - B)} \quad (2.2)$$

$$S = 1 - \frac{\min(R, G, B)}{I} \quad (2.3)$$

Las ecuaciones 2.1, 2.2 y 2.3 representan matemáticamente la transformación de los planos de color RGB al modelo de color HSI.

Así como el espacio de color RGB se representa con un cubo, el espacio HSI se representa con dos conos hexaédricos como se muestra en la figura 2.12.

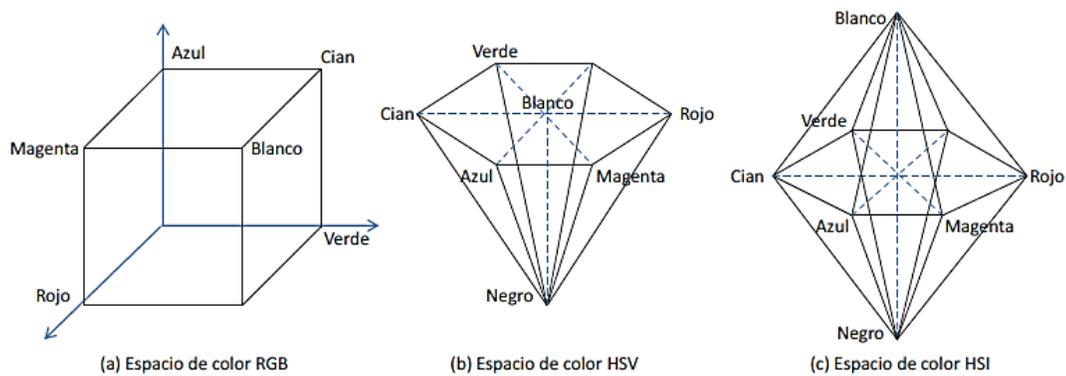


Figura 2.12. Espacios de color RGB y HSI.

Dentro del hexágono, el color viene definido por el tono, representado en grados (el rojo es 0° , el verde 120° y azul 240°) y la saturación indica la distancia al centro del hexágono. Esta misma representación puede realizarse en forma de cono (Figura 2.13).

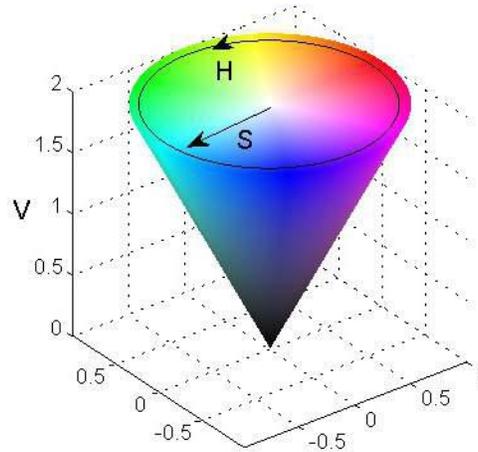


Figura 2.13. Representación del espacio de color HSI en forma de un cono invertido.

A continuación (Figura 2.14) se muestra en el plano HSV la imagen original de la Figura 2.11 y sus respectivos planos del espacio de color, tono (H), saturación (S) y valor (V). El color viene representado por el primer canal (tono), que es el color inicial, la saturación es la concentración que tiene el color seleccionado, y el valor indica la tonalidad más o menos oscura [1].

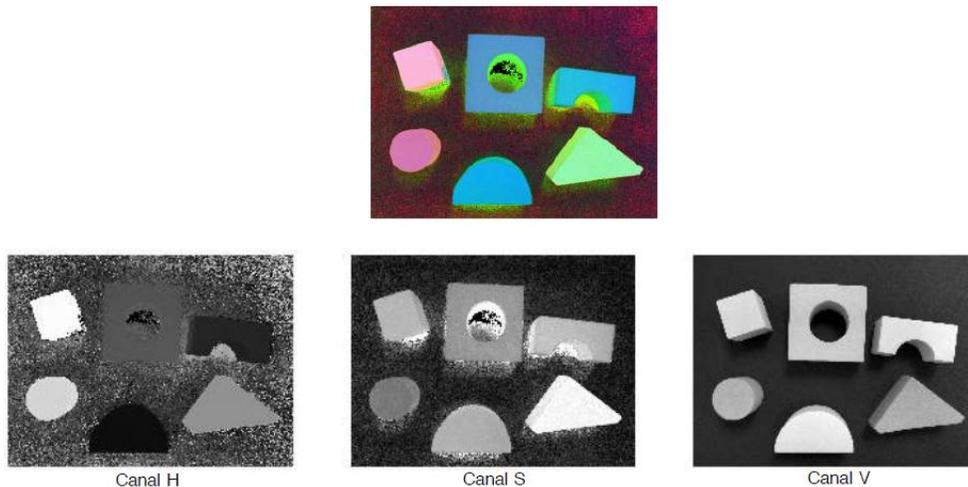


Figura 2.14. Espacio de color HSV y sus tres canales, tono (H), saturación (S) y valor (V).

2.4.2. ADECUACIÓN DE IMÁGENES (PRE-PROCESAMIENTO).

En la adquisición y digitalización de imágenes existen factores difíciles de controlar, relacionados con la escasa iluminación en la escena, reflexión y refracción de la luz sobre los objetos, deformaciones geométricas y ruido aleatorio, que introducen información no deseada que degrada o altera la imagen, haciéndose necesario utilizar técnicas para la reducción de ruido, además de la aplicación de métodos que permitan mejorar la calidad de la imagen realzando las características más relevantes u ocultar valores de forma selectiva, según el campo de aplicación, para que en etapas posteriores como la segmentación, extracción de características y clasificación se tengan mejores resultados. Las técnicas de pre-procesado se basan en el filtrado o suavizado de la imagen y la modificación de brillo y contraste.

2.4.3. SEGMENTACIÓN DE IMÁGENES.

Segmentar consiste en separar los objetos de interés presentes en una imagen, considerando diferentes características como los píxeles o formas geométricas de agrupación de los píxeles, niveles de gris y el color [1], para ello se utilizan técnicas como:

- **Binarización por umbral** (Umbral óptimo, método Otsu): Consiste en la identificación de un valor umbral T en el histograma de la imagen. Dicho umbral permitirá la binarización de la escena, asignando valores típicos 0 o 255, con esto se obtiene una imagen a blanco y negro permitiendo la identificación de objetos en la imagen (Figura 2.15)[1].

- **Etiquetado de componentes conexas** (crecimiento o división de regiones): Consideramos componentes conexas, aquellas partes de la imagen entre cuyos píxeles siempre existe un camino, de forma que se pueda ir de uno a otro sin abandonar la región que los contiene (Figura 2.16)[1].



Figura 2.15. Binarización de la escena por umbralización.

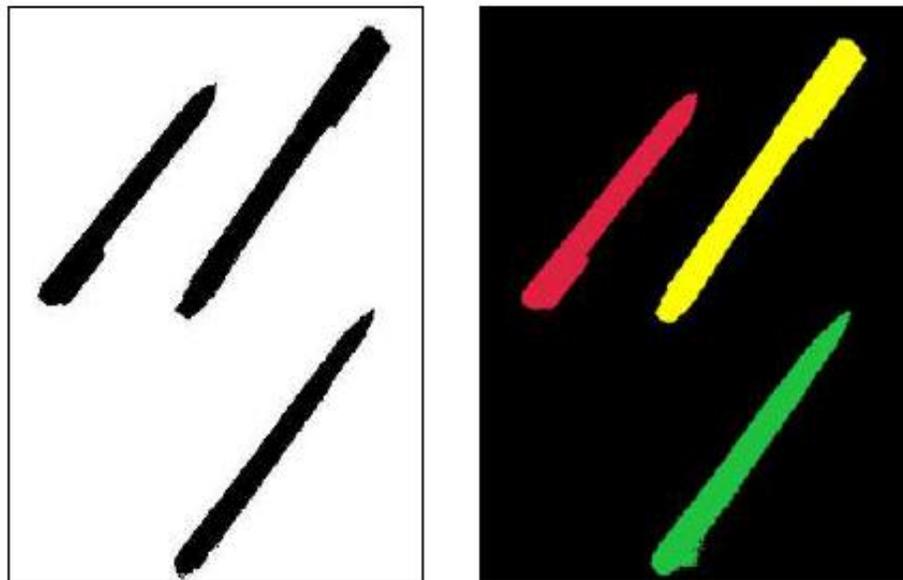


Figura 2.16. Segmentación y etiquetado por componentes conexas.

- **Extracción de regiones por el color** (segmentación por planos de color RGB o HSI): Consiste en la extracción de características o segmentación de objetos utilizando las componentes del color que lo conforman, siendo posible obtener información con los planos de color del espacio RGB o HSI (Figura 2.17)[1].

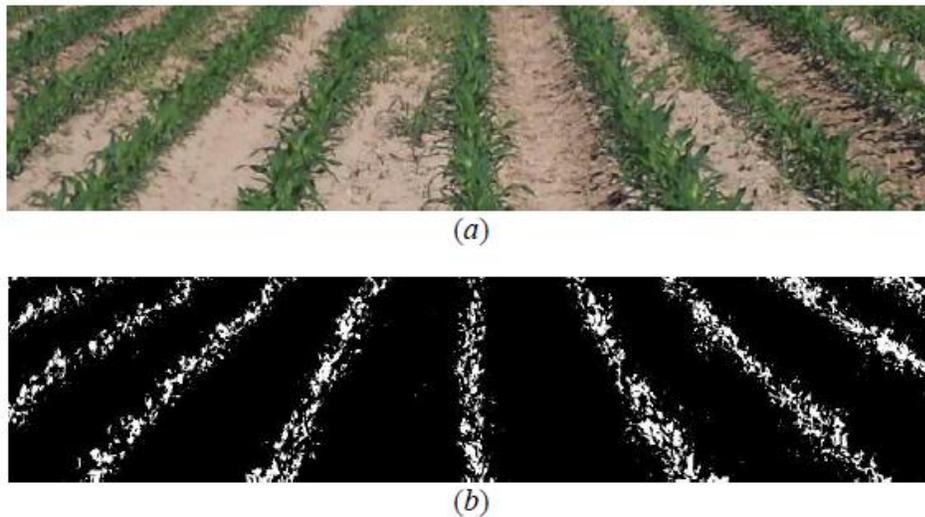


Figura 2.17. Segmentación por plano de color RGB.

2.4.4. EXTRACCIÓN DE CARACTERÍSTICAS.

Posterior a los procedimientos que se utilizan para segmentar objetos en una imagen, se realizan descripciones de cada uno de estos mediante valores numéricos propios de los elementos segmentados en la escena [1][2]. Entre los descriptores que permiten caracterizar los objetos encontramos:

- Tamaño.
- Perímetro.
- Compacticidad.
- Posición orientación.
- Descriptores topológicos.
- Proyecciones
- Signatura, energía.

Los anteriores descriptores no son los únicos que permiten caracterizar objetos en las imágenes segmentadas, dependiendo de las condiciones de la imagen y la información que se muestra, podrían utilizarse otros descriptores [1].

2.5. PROCESAMIENTO DIGITAL DE IMÁGENES HISTOLÓGICAS.

En la actualidad se desarrollan técnicas y algoritmos orientados al análisis de imágenes médicas, en particular las muestras histopatológicas son de gran interés teniendo en cuenta que con ellas se realizan diagnósticos de enfermedades o lesiones, además busca alternativas y soluciones a problemas como la variabilidad intra-observador e inter-observador del diagnóstico proporcionado entre patólogos, entonces se diseñan nuevos mecanismos o herramientas que arrojen resultados cuantitativos, los cuales se convierten en un complemento o asistencia para el diagnóstico de enfermedades basado en análisis de imágenes histológicas.

Para el análisis microscópico de las muestras histopatológicas de mucosa gástrica, una acertada clasificación de las lesiones de la mucosa por presencia de *H. pylori*, permite que el paciente afectado reciba un tratamiento adecuado de la lesión. Hay mucha variabilidad inter-observador en el grado de atrofia gástrica a no ser que sea acentuada [8][36], por lo que el análisis microscópico de histopatologías de la mucosa gástrica con técnicas de procesamiento digital de imágenes se convierte en una alternativa que busca dar solución al problema de la variabilidad, además este tipo de investigación ha sido abordada por diferentes científicos nivel mundial, en particular las lesiones de la mucosa gástrica previas al cáncer son objeto de análisis, pues la infección por *H. pylori* es un problema de salud pública ya que el cáncer gástrico presenta un elevado índice de mortalidad [17] [18] [19].

En la tabla 2.3. Se muestran algunas investigaciones relacionadas al procesamiento de imágenes histológicas, aquí se muestran los principales elementos de análisis como los núcleos de las células y zonas glandulares, también se hace una mención de la técnica utilizada y su respectiva eficiencia. Para procesar digitalmente las imágenes histológicas de mucosa gástrica con atrófica glandular y metaplasia, se decide utilizar algoritmos y técnicas de procesamiento digital de imágenes basado en la manipulación de los planos de color HSI y algunas texturas, debido a que las histologías presentan una clara distinción de color para diferentes regiones, como las glándulas que junto a los núcleos

de las células se distinguen lo suficiente debido a la técnica de tinción utilizada, además las células caliciformes también adquieren una alta diferenciación por color.

Tabla 2.3 Técnicas de procesamiento digital de imágenes empleadas en análisis de imágenes histológicas para identificar núcleos y glándulas

Elementos de analisis	Técnica	Eficiencia
Núcleos	Redes neuronales y planos de color (B. Pang, Y. Zhang. 2010) [37]	92-95%
	Medición de texturas (O. S. Al-Kadi. 2010) [38]	83.75%-92.50%,
	Textura y agrupamiento (Tosun et al. 2009) [39]	94.89%
	Análisis de textura (Gurcan et al. 2006) [40]	90.24±5.14%
	Level-set (snakes) (contornos geodésicos) (Basavanhally et al. 2010) [41]	90%
	Algoritmos de agrupamiento (Sertel et al. 2010) [42]	89%
	Algoritmos de agrupamiento (Kong et al. 2009) [43]	88.4%
	Textura y agrupamiento (Al-Kofahi et al. 2010) [44]	86%
	Textura y agrupamiento (Dalle et al. 2008) [45]	—
	Level-set (snakes) (contornos geodésicos) (Gurcan et al. 2009) [46]	—
	Glándulas	Máquinas de soporte vectorial (Doyle and Agner 2008) [47]
Máquinas de soporte vectorial (Muthu Rama Krishnan et al. 2009) [48]		87.54%
Análisis de textura (Al-Kadi 2010) [38]		83.75%
Plantado de semillas (Altunbay et al. 2010) [49]		82.65%
Snakes (Naik et al. 2008) [50]		80.52-95.19%
Análisis de textura (Sertel et al. 2009) [51]		81.1%
Análisis de textura (Umesh Adiga and Chaudhuri 2000) [52]		80%
Level-set (snakes) (contornos geodésicos) (Fatakawala et al. 2010) [53]		64%
Análisis de textura (Pang et al. 2010) [37]		---
Level-set (snakes) (contornos geodésicos) (Xu et al. 2011) [3]		---

3. METODOLOGÍA.

Al tomar como referente como referente el método de estadificación de la atrofia glandular con metaplasia intestinal, es decir el sistema OLGIM, y al utilizar el modelo secuencial del procesamiento digital de imágenes descrito la sección 2.5, se diseñaron algoritmos que permiten procesar digitalmente las imágenes de muestras de la mucosa con metaplasia intestinal.

3.1. ADQUISICIÓN DE MUESTRAS HISTOLÓGICAS.

Las muestras histológicas de mucosa gástrica con diagnóstico previo de atrofia gástrica con metaplasia intestinal, fueron suministradas por personal del Laboratorio De Patología Del Hospital San José de la ciudad de Popayán. El protocolo de tinción utilizado en tales muestras corresponde a la tinción de rutina con Hematoxilina y Eosina (H-E). Las tinciones con H&E buscan hacer visibles las partes de una muestra histológica, a partir de la combinación de sustancias químicas las partes de la muestra adquieren una coloración específica como se indica a continuación:

- **Colágeno:** rosa pálido.
- **Músculo:** rosa fuerte.
- **Citoplasma:** rosado.
- **Núcleos:** azul oscuro o púrpura.
- **Eritrocitos:** color cereza.

Las fotografías de las imágenes de mucosa gástrica de la región antral del estómago, fueron tomadas en la Facultad de Salud de la Universidad del Cauca, con la supervisión y asesoría de personal especializado del Departamento de Morfología. Para ello se utilizó un microscopio digital LeicaDM500 (Figura 3.1) y su correspondiente acople de cámara digital LeicaICC50 W, con resolución de 5 Megapíxeles. Estas imágenes histológicas

fueron adquiridas con uso del objetivo de 10X del microscopio y almacenadas en formato digital JPEG.



Figura 3.1. Microscopio digital LeicaDM500

3.2. ADECUACIÓN DE LAS IMÁGENES HISTOLÓGICAS.

Considerando que durante el proceso de adquisición de las imágenes se introducen algunos defectos digitales conocidos como ruido, además que no todas las secciones de la escena digital son de interés para la obtención de un diagnóstico de atrofia glandular con metaplasia intestinal, se realiza un pre-procesamiento donde se busca disminuir el ruido que aparece naturalmente en la toma de la fotografía, así como la reducción del área de trabajo para procesar la imagen.

La adecuación y posterior procesamiento de las imágenes se realizó utilizando un computador ACER ASPIRE 4750, con procesador Intel Core i5 (Figura 3.2) implementando las siguientes técnicas.



Figura 3.2. Equipo computacional utilizado en el procesamiento digital de las imágenes histológicas.

3.2.1. FILTRADO DE LA IMAGEN DE LA MUESTRA.

Se utilizó un filtro Gaussiano, el cual permite la reducción de los defectos propios de la captura de la imagen como la fluctuación de señales electrónicas o la variación de las condiciones de iluminación de la escena y las temperaturas. El kernel del filtro esta dado como:

$$G(x, y) = \frac{1}{2\pi\sigma^2} e^{-\frac{x^2+y^2}{2\sigma^2}} \quad (3.1)$$

Dónde: X y Y son las coordenadas de los pixeles en la imagen original, y sigma (σ) corresponde a la desviación estándar de distribución de probabilidad de los pixeles en la escena

3.2.2. ECUALIZACIÓN DEL HISTOGRAMA.

Las imágenes de las muestras histológicas presentan saturaciones del color en algunas secciones de la escena, esto debido al proceso del tinción utilizado con H&E, razón por la cual se realizó una ecualización de del histograma de las imágenes, con lo cual se obtiene

una nueva imagen de la muestra con una mejor distribución de las frecuencias de cada valor de gris presente en las imágenes de las muestras. La ecuación (3.3) describe el proceso de ecualización del histograma mediante el histograma acumulado (3.2):

$$H(i) = \sum_{k=0}^i h(k) \quad (3.2)$$

$$i_{nuevo} = parte_entera \left(\frac{256}{NM} H(i_{antiguo}) - 1 \right) \quad (3.3)$$

3.2.3. SELECCIÓN DEL ESPACIO DE COLOR.

Las muestras de mucosa gástrica fueron teñidas con H-E, en ellas el color de las imágenes adquiere gran importancia, pues se hacen notorias algunas diferencias que presentan las células de las glándulas en comparación con las células caliciformes. Para el ojo humano, los núcleos celulares presentes en las glándulas de la mucosa gástrica adquieren una tonalidad azul oscura debido a la hematoxilina, mientras que las células caliciformes toman una apariencia blanca, esto debido a que segregan un moco soluble, transparente y que la H-E, no presenta afinidad por él.

Dada las anteriores circunstancias, se procede a realizar una conversión de la imagen del espacio de color RGB al HSI (ecuaciones 3.4 - 3.6), para extraer y amplificar el plano S, con el objetivo de saturar las características de color que hacen posible reconocer los núcleos de las células, lo que permite identificar las glándulas a las cuales pertenecen y delimitar así el área de trabajo.

$$I = \frac{R + G + B}{3} \quad (3.4)$$

$$H = \frac{\sqrt{3}(G - B)}{(R - G) + (R - B)} \quad (3.5)$$

$$S = 1 - \frac{\min(R, G, B)}{I} \quad (3.6)$$

La amplificación del plano S se realiza con la multiplicación por 2 de cada pixel de la imagen, intensificando la saturación de los colores presentes en la imagen.

3.3. SEGMENTACIÓN.

3.3.1. BINARIZACIÓN.

Con el área de trabajo delimitada, descrita en sección 3.2.3, se procede a la binarización de la imagen utilizando el método de umbralización:

$$g(x, y) = \begin{cases} 0, & \text{si } f(x, y) > T \\ 1, & \text{si } f(x, y) \leq T \end{cases} \quad (3.7)$$

Donde $f(x, y)$ representa la intensidad de los pixeles de la imagen de entrada y $g(x, y)$ es la intensidad de los pixeles de la imagen de salida, T es el valor umbral de binarización [1]. La imagen de salida $g(x, y)$ en esta etapa es considerada la máscara de la sección de trabajo, la cual aún presenta algunas irregularidades en su estructura. Para calcular el nivel de umbral (T) se utilizó el método de Otsu. Dicho umbral corresponde al nivel de intensidad que proporciona la mínima varianza ponderada definida la ecuación 3.8[1]:

$$\sigma^2 = w_1(t)\sigma_1^2(t) + w_2(t)\sigma_2^2(t) \quad (3.8)$$

Donde se tiene que, las probabilidades acumuladas hasta el umbral T , y desde T hasta L niveles de intensidad de gris son:

$$w_1(t) = \sum_{z=1}^T P(z) \quad y \quad w_2(t) = \sum_{z=T+1}^L P(z) \quad (3.9)$$

$$\mu_1(t) = \sum_{z=1}^T zP(z) \quad y \quad \mu_2(t) = \sum_{z=T+1}^L zP(z) \quad (3.10)$$

$$\sigma_1^2(t) = \sum_{z=1}^T (z - \mu_1(t))^2 \frac{P(z)}{w_1(t)} \quad y \quad \sigma_2^2(t) = \sum_{z=1}^T (z - \mu_2(t))^2 \frac{P(z)}{w_2(t)} \quad (3.11)$$

Este proceso de umbralización presenta ruido en el interior y exterior de la región de trabajo, el cual se elimina utilizando funciones de relleno de agujeros, luego detectando áreas pequeñas que hacen parte de elementos del tejido de la lámina propia, esto es alcanzado utilizando operaciones de tipo morfológico.

La transformación de imágenes con operaciones Morfológicas Matemáticas (MM)[1], consiste en el empleo de operaciones de conjunto como la unión, intersección, complemento y diferencia de otras imágenes, estas operaciones de conjunto se representan gráficamente en la Figura 3.3, donde se indican los resultados de operar dos matrices binarias A y B [22]:

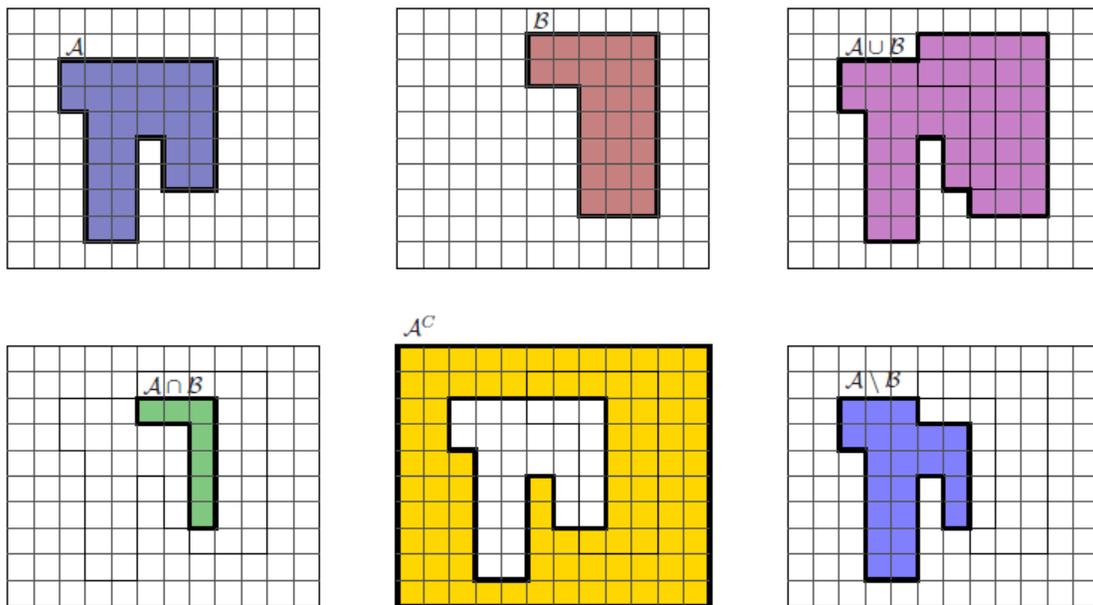


Figura 3.3. Operaciones de conjunto entre dos imágenes binarias definidas sobre una matriz.

Para la aplicación de las operaciones MM, se tendrán en cuenta dos conjuntos, el primero es la imagen de entrada y el segundo es una matriz de tamaño pequeño, llamado

elemento estructurante (EE) [1]. El elemento estructurante recorre la imagen original de forma similar a las convoluciones [1], luego realiza las operaciones morfológicas indicadas, consiguiendo una transformación de la escena a partir del conjunto de píxeles tanto de la imagen original como del elemento estructurante.

La máscara obtenida en la sección 3.3.1, aún presenta pequeños puntos negros por fuera del borde las secciones glandulares, los cuales han sido eliminados con la aplicación de operaciones morfológicas de apertura, obteniendo una mejor máscara para aplicarla en la siguiente etapa del procesamiento.

3.3.1.1. DILATACIÓN.

Es una operación morfológica, que permite ampliar los contornos de una imagen a partir de la convolución con un elemento estructurante. Aplicando la dilatación, las zonas claras de la imagen aumentan, haciendo que las zonas oscuras tiendan a disminuir. La ecuación 3.12 describe esta operación morfológica, donde la imagen X es dilatada utilizando el elemento estructurante B.

$$\text{Dilatación } X \oplus B = \{x / \check{B} \cap X \neq \emptyset\} \quad (3.12)$$

La dilatación de la imagen X, vista como una convolución de un EE B, se puede observar gráficamente en la figura 3.4 [1]:

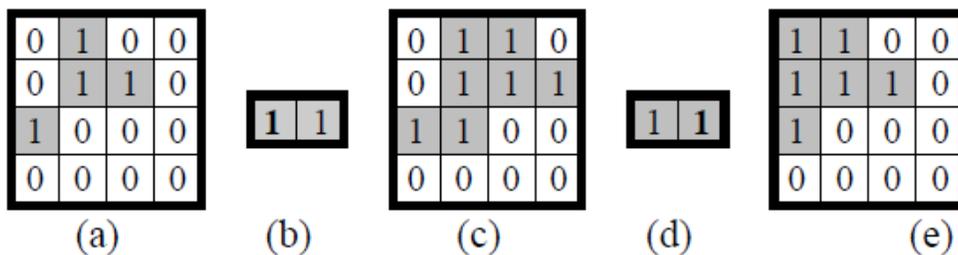


Figura 3.4. (a) Imagen original (b) EE centrado con origen en el pixel izquierdo; (c) Imagen dilatada con (b); (d) EE centrado con origen en el pixel derecho; (e) Imagen dilata con (d)

3.3.1.2. EROSIÓN.

Es una operación morfológica, que permite reducir los contornos de una imagen a partir de la convolución con un elemento estructurante. Aplicando la dilatación, las zonas claras de la imagen se reducen, haciendo que las zonas oscuras de la imagen se amplíen. La ecuación 3.13 describe esta operación morfológica, donde la imagen X es erosionada utilizando el elemento estructurante B.

$$\text{Erosión } X \ominus B = \{x / B_x \cap X^c \neq \emptyset\} \quad (3.13)$$

La erosión de la imagen X, vista como una convolución de un EE B, se puede observar gráficamente en la figura 3.5 [1]:

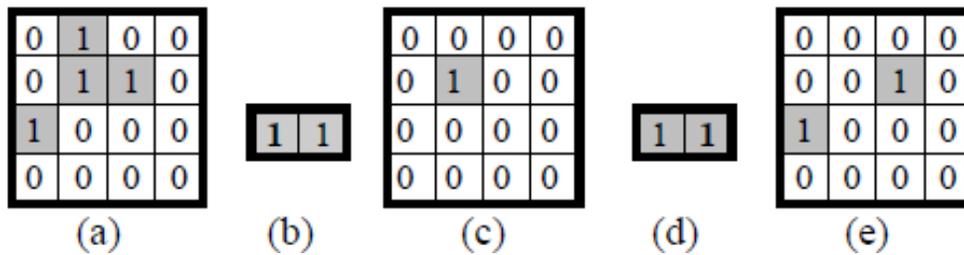


Figura 3.5. (a) Imagen origina; (b) EE centrado con origen en el pixel izquierdo; (c) Imagen erosionada con (b); (d) EE centrado con origen en el pixel derecho (d); (e) Imagen erosionada con (d)

3.3.1.3. APERTURA.

La operación morfológica de apertura se basa en una erosión seguida de una dilatación, como se describe en la siguiente ecuación:

$$\text{Apertura } X \circ B = (X \ominus B) \oplus B \quad (3.14)$$

La apertura vista como una convolución de un EE, se describe en la figura 3.6 [1]:

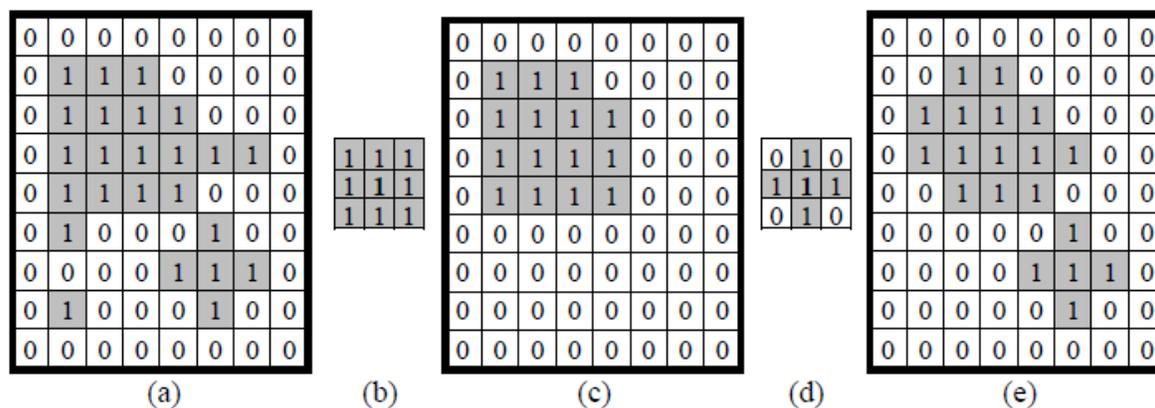


Figura 3.6. (a) Imagen original; (b) EE vecinos a 8; (c) Apertura de la imagen (a) con b; (d) EE vecinos a 4; (e) Apertura de la imagen (a) con (d).

3.3.2. DETERMINACIÓN DE LA ZONA DE TRABAJO.

Con la máscara obtenida en la sección 3.2.4, y la imagen digital adquirida de la muestra histológica, se realiza la operación lógica AND descrita en la ecuación 3.15, para obtener una imagen en la cual solo se observa la zona glandular, lo que se convierte en la imagen de entrada para posteriores etapas del procesamiento y reconocimiento de las secciones histológicas.

$$\text{Apertura } X \circ B = (X \ominus B) \oplus B \quad (3.14)$$

La operación lógica AND, \odot , asigna un 0 de salida si la imagen original y la máscara tienen diferentes valores de verdad o los dos son cero, en caso contrario, cuando la imagen de entrada y la máscara tienen valores iguales a uno, la imagen de salida toma los valores de la imagen de entrada.

Tabla 3.1. Operación lógica AND utilizada en procesamiento digital de imágenes

Imagen ENTRADA	MASCARA	Imagen SALIDA
0	0	0
0	1	0
1	0	0
1	1	1

Para el procesamiento de imágenes digitales el valor 1 indica cualquier valor de intensidad de gris que no sea cero.

En la Figura 3.7 se presenta un resumen del algoritmo empleado para segmentar la zona glandular. Finalmente, utilizando la segmentación realizada, se procede a aplicar algoritmos computacionales que permiten segmentar las glándulas de la mucosa gástrica, núcleos de las células glandulares y las células caliciformes (metaplasia intestinal), haciendo posible la extracción de características que permiten realizar la estadificación de la lesión de la mucosa gástrica tomando como referencia el método OLGIM [10][35], indicado en la sección 2.4.

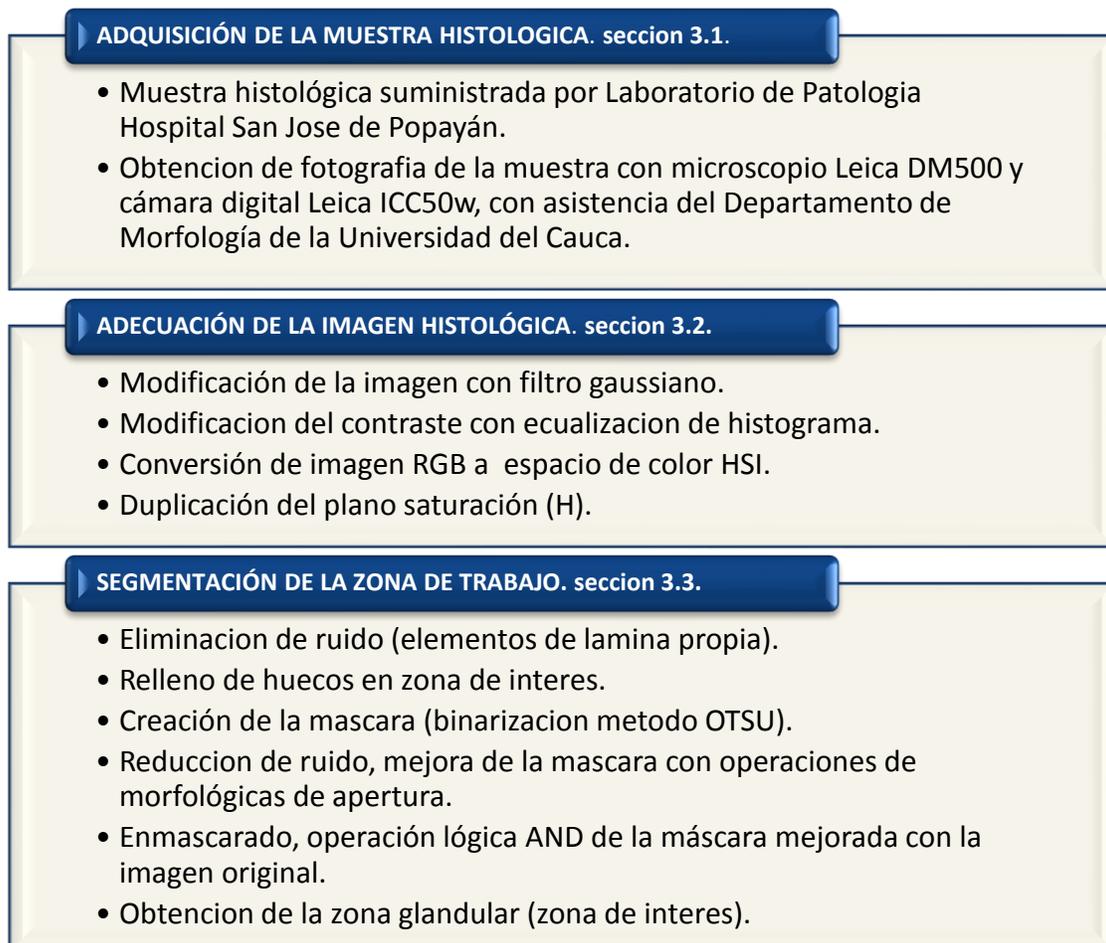


Figura 3.7 Resumen del procedimiento realizado para la obtención de la zona de interés en las muestras histológicas.

3.3.3. SEGMENTACIÓN DE GLÁNDULAS

La imagen obtenida en la sección 3.3.3, obtenida mediante el procedimiento descrito en la Figura 3.7, corresponde a la zona glandular de la muestra histológica de la mucosa gástrica, razón por la cual se procede a etiquetar y contar cada una de las glándulas presentes en la escena.

3.3.4. SEGMENTACIÓN DE NÚCLEOS CELULARES Y METAPLASIA INTESTINAL.

Tomando como imagen de entrada la zona de interés descrita en la sección 3.3.3, además de la aplicación del algoritmo descrito en la Figura 3.8, se realiza la segmentación de núcleos celulares.

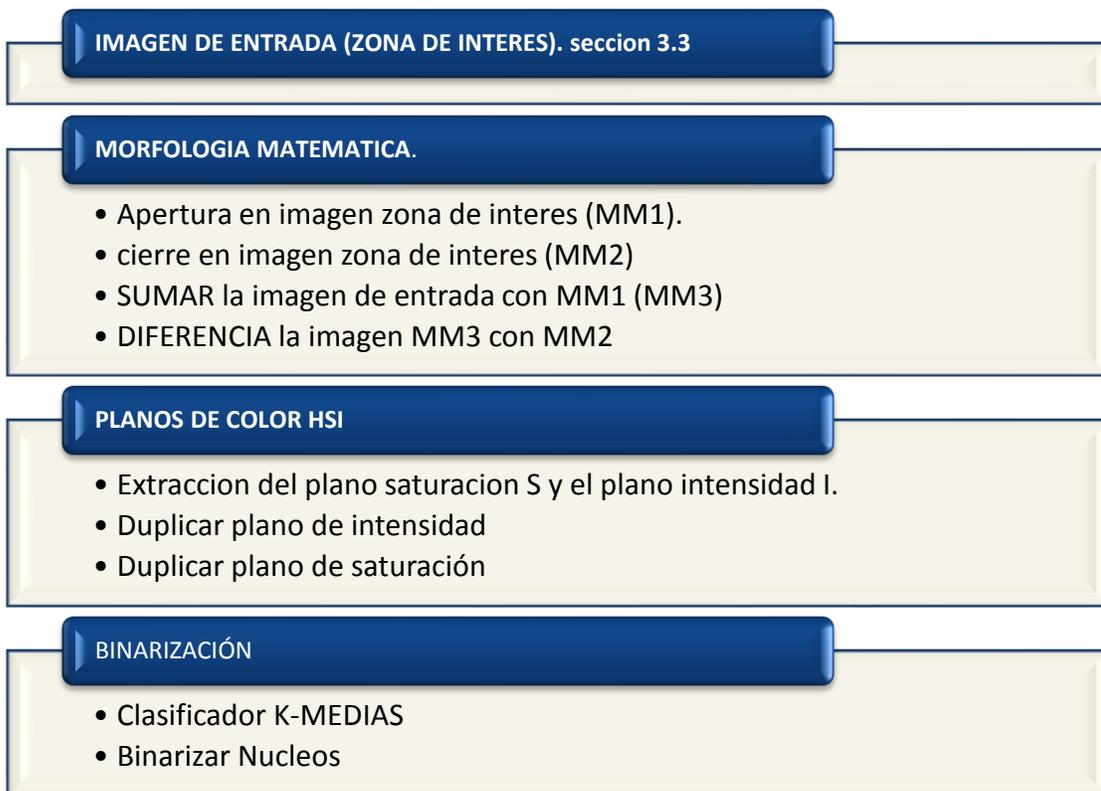


Figura 3.8. Algoritmo empleado para segmentar núcleos de las células de la glándula gástrica

Las células caliciformes presentes en las glándulas fueron segmentadas con el algoritmo descrito en la Figura 3.9, utilizando la descomposición de la imagen entrada (Zona de interés) en sus componentes del plano de color RGB, seleccionando el plano G, luego realizando operaciones morfológicas para poder binarizar adecuadamente con el método Otsu, finalmente aplicamos el criterio de factor de forma para eliminar aquellas regiones o segmentos de la imagen que puedan ser identificados como metaplasia intestinal.

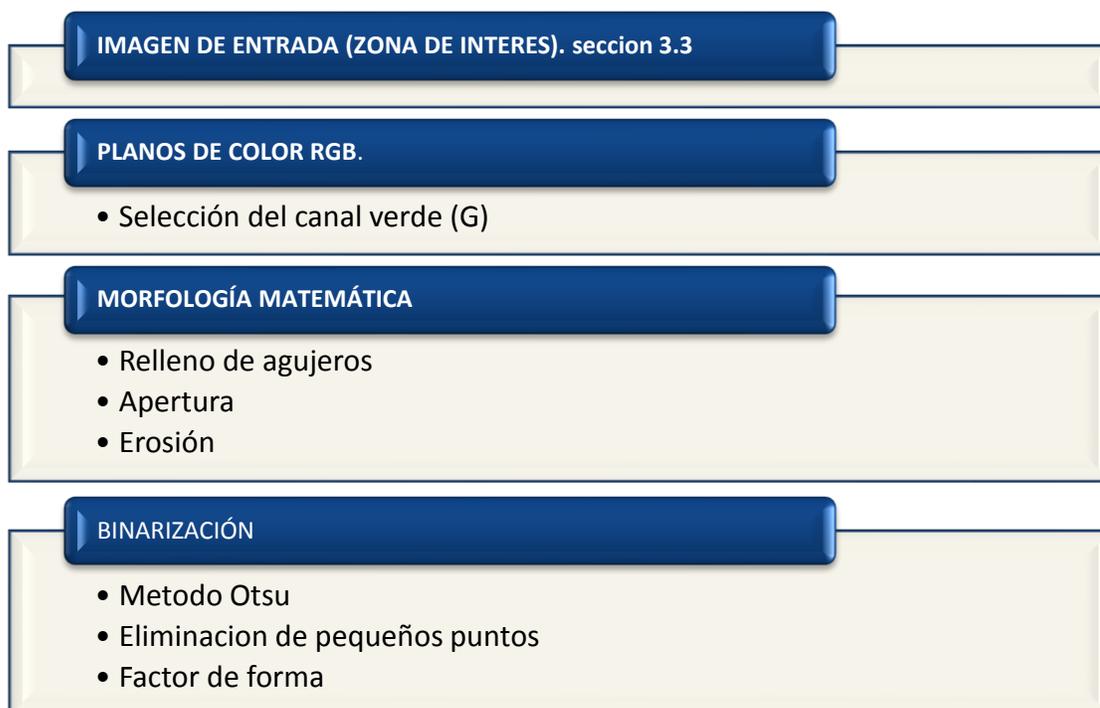


Figura 3.9. Algoritmo empleado para segmentar metaplasia intestinal.

3.3.5. REPRESENTACIÓN Y DESCRIPCIÓN.

Posterior a la segmentación de las glándulas de la mucosa gástrica, se realiza un conteo de estas utilizando etiquetas por componentes conexas, descrito en la sección 2.5.3. Luego de segmentar células caliciformes o metaplasia intestinal, se realiza el conteo de estas a través de etiquetas por componentes conexas de forma similar al conteo de glándulas.

El número de glándulas y el número de células caliciformes sobre la mucosa gástrica son los descriptores necesarios que serán utilizados para estadificar la lesión ocasionada por infección con *H. pylori*.

3.3.6. RECONOCIMIENTO E INTERPRETACIÓN.

Con los descriptores anteriormente seleccionados (número de glándulas y número de células caliciformes), se realiza la estadificación de la lesión de la mucosa gástrica tomando como referente la propuesta OLGIM descrita en la sección 2.4. Luego, relacionando estos dos parámetros, se determina el porcentaje de glándulas afectadas con metaplasia intestinal, permitiendo establecer si la lesión sobre la mucosa gástrica es leve, moderada o severa.

3.4. EVALUACIÓN Y DESEMPEÑO DEL SISTEMA.

El desempeño de los algoritmos empleados para detectar glándulas gástricas lesionadas con metaplasia intestinal será evaluado con los criterios ROC [54], además la concordancia entre el sistema desarrollado y el diagnóstico dado por el patólogo será evaluado con el coeficiente Kappa [55].

Tabla 3.2. VALORACIÓN DEL DESEMPEÑO ROC

Desempeño ROC	Valoración del test
[0,50 - 0,60)	Test malo
[0,60 - 0,75)	Test regular
[0,75 - 0,90)	Test bueno
[0,90 - 0,97)	Test muy bueno
[0,97 - 1,00)	Test excelente

Tabla 3.3. VALORACION DEL COEFICIENTE KAPPA. (LANDIS Y KOCH 1977)

Coefficiente Kappa	Fuerza de la concordancia
0,00	Pobre
0,01 - 0,2	Leve
0,21 - 0,40	Aceptable
0,41 - 0,60	Moderada
0,61 - 0,80	Considerable
0,81 - 1,00	Casi perfecta

4. RESULTADOS Y ANALISIS.

4.1. ADQUISICIÓN DE IMÁGENES

Las fotografías de las muestras histopatológicas de la mucosa gástrica fueron adquiridas con un microscopio digital LeicaDM500, el cual tiene acoplada una cámara digital LeicaICC50 W de 5 megapíxeles de resolución. Las imágenes fueron adquiridas utilizando un aumento 10X (Figura 4.1.) y almacenadas en formato digital JPEG en una base de datos utilizada en posteriores etapas del procesamiento de las imágenes.

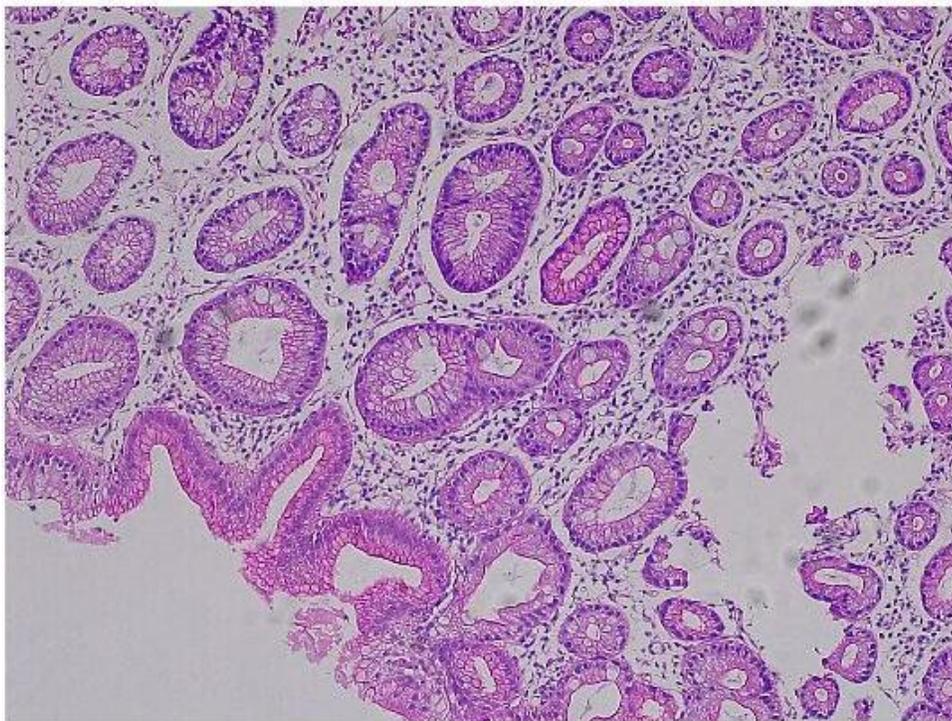


Figura 4.1. Mucosa gástrica con metaplasia intestinal en la que se observan las células caliciformes. Tinción de H-E con un aumento de 10X

Se seleccionaron un total de 30 fotografías de placas histológicas de mucosa gástrica de pacientes con el diagnóstico endoscópico e histológico de gastritis atrófica con metaplasia intestinal asociada a infección con *Helicobacter pylori*. Este material histológico hace parte del banco de placas del Departamento de Patología del Hospital Universitario San José de Popayán.

4.2. ADECUACIÓN DE LA IMAGEN: FILTRADO.

Para mantener las características de interés, como los bordes de las glándulas, núcleos de las células de las glándulas y las células caliciformes (metaplasia), las imágenes fueron adecuadas (pre-procesadas) utilizando un filtro gaussiano, descrito en la sección 3.2.1, utilizando un parámetro $\sigma = 0,5$. Este filtro permitió eliminar el ruido blanco gaussiano conservando las características propias de los bordes nucleares y glandulares (Figura 4.1)

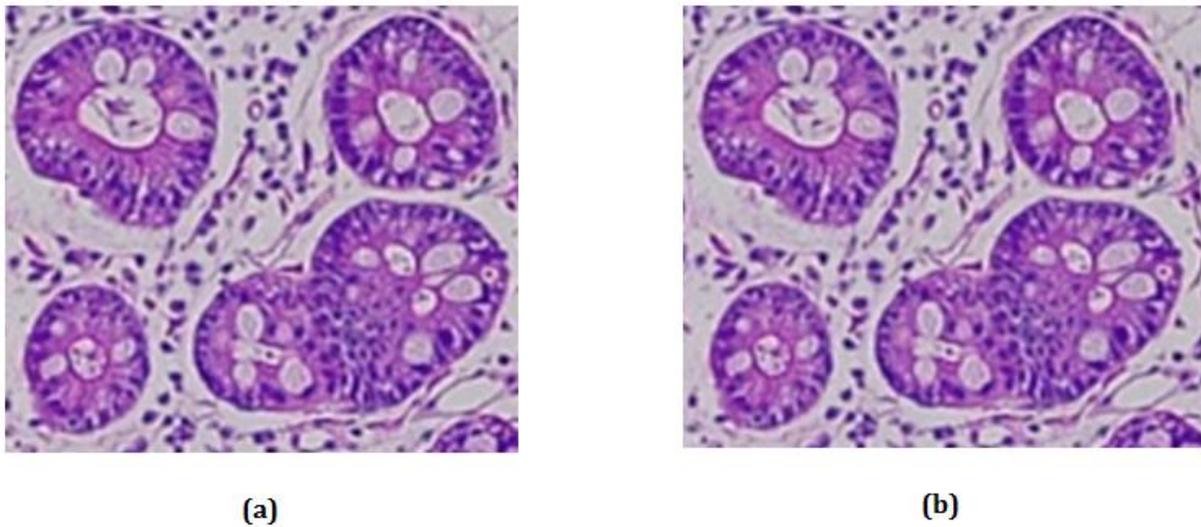


Figura 4.2. Filtrado. (a) Sección de la imagen digital de una muestra histológica de mucosa gástrica (H-E) a 10X. (b) Filtro Gaussiano aplicado a la sección de la imagen (a) que resalta los bordes de las glándulas gástricas y sus núcleos.

La Figura 4.2 (a) se muestra una sección de la imagen original, en la figura 4.2 (b) se observa el resultado obtenido luego de aplicar el filtro gaussiano. La nueva imagen está ligeramente difuminada, alcanzando una limpieza de las luces glandulares, las células caliciformes y el fondo de la imagen (lámina propia). Estas adecuaciones de la imagen permite la segmentación adecuada en etapas posteriores. También es evidente que se conservan los bordes glandulares y los bordes de las células caliciformes.

4.3. SEGMENTACIÓN.

4.3.1. ZONA DE TRABAJO.

La imagen filtrada se separó en sus componentes de color HSI y se amplificaron los valores del plano S, consiguiéndose un aumento de las características de color de la zona glandular, reflejado en un aumento significativo del contraste que facilito la binarización de la imagen utilizando el método Otsu (Figura 4.3. columna (b)).

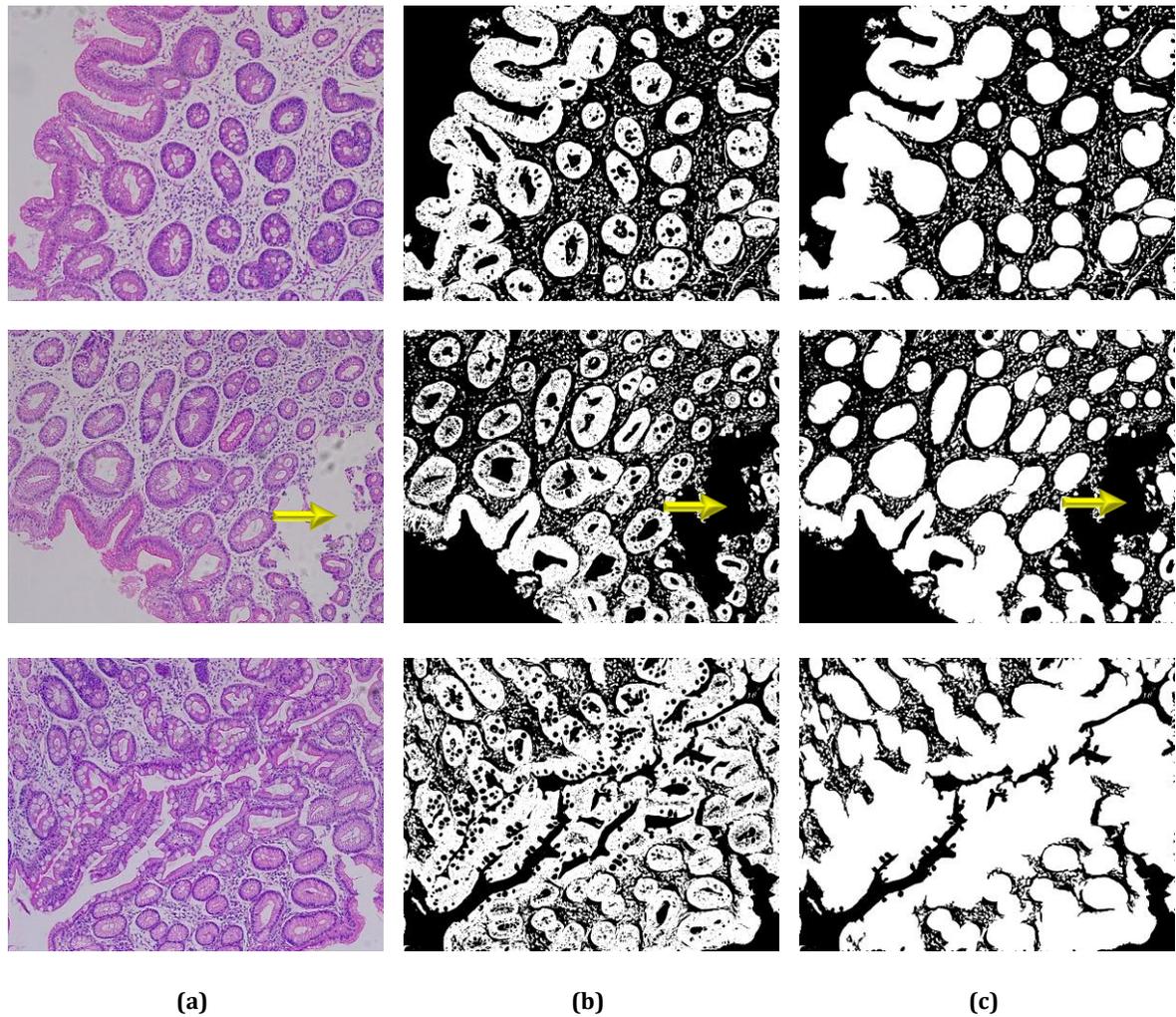


Figura 4.3. Binarización. (a) Imágenes originales filtradas. (b) Resultado de la binarización usando el método de OTSU. (c) Relleno de huecos en la región de interés. La flecha en color amarillo indica un artefacto, producido por desgarre en la muestra en el corte.

Sobre la nueva imagen binaria se realizaron operaciones morfológicas descritas en la sección 3.3.2 para rellenar huecos o zonas negras al interior de la región glandular (Figura 4.3. columna (c)), con lo que se obtiene una delimitación mejorada del área de interés, además es evidente la presencia de pequeños puntos o zonas blancas que no pertenecen a las glándulas de la mucosa gástrica. La flecha amarilla señala un artefacto, donde se observa una zona de apariencia clara que corresponde a un desgarre de la muestra producida por el corte realizado sobre la biopsia, este artefacto en si no se considera una luz glandular. El algoritmo empleado para la segmentación de las glándulas, no detecta el artefacto, pues en las imagen binaria y la imagen con relleno de mostradas en la columna (b) y (c) de la Figura 4.3, este artefacto no es detectado, indicando una buena segmentación del algoritmo. Los puntos blancos que no pertenecen a la zona glandular observados en la Figura 4.3 (c), son considerados como ruido de la imagen binaria, pues no son objetos de interés en la escena que será procesada, razón por la cual se procede a eliminarlos de la escena con operaciones morfológicas de apertura utilizando un elemento estructurante en forma de disco con un radio de 15.

En la Figura 4.4. (a) se muestran las zonas consideradas como ruido en las imágenes histológicas, este ha sido superpuesto en la imagen original y que corresponde a la zona de la lámina propia de las histologías de la mucosa gástrica. En la Figura 4.4. (b) se observa la máscara de la zona de interés obtenida posterior a la aplicación de operaciones morfológicas de apertura y que han sido eliminados los puntos blancos o zonas blancas que aún permanecían en la binarización realizada cuyo resultado se muestra en Figura 4.3 (C).

Para establecer el grado de la lesión de la mucosa utilizando la referencia descrita por OLGIM (sección 2.4), las glándulas de la mucosa gástrica y las células caliciformes o metaplasia son los descriptores decisivos para estadificar la lesión, razón por la cual la máscara obtenida en la Figura 4.4. (b) permitirá obtener los descriptores mencionados, ya que en ella están contenidas las secciones glandulares y las células caliciformes.

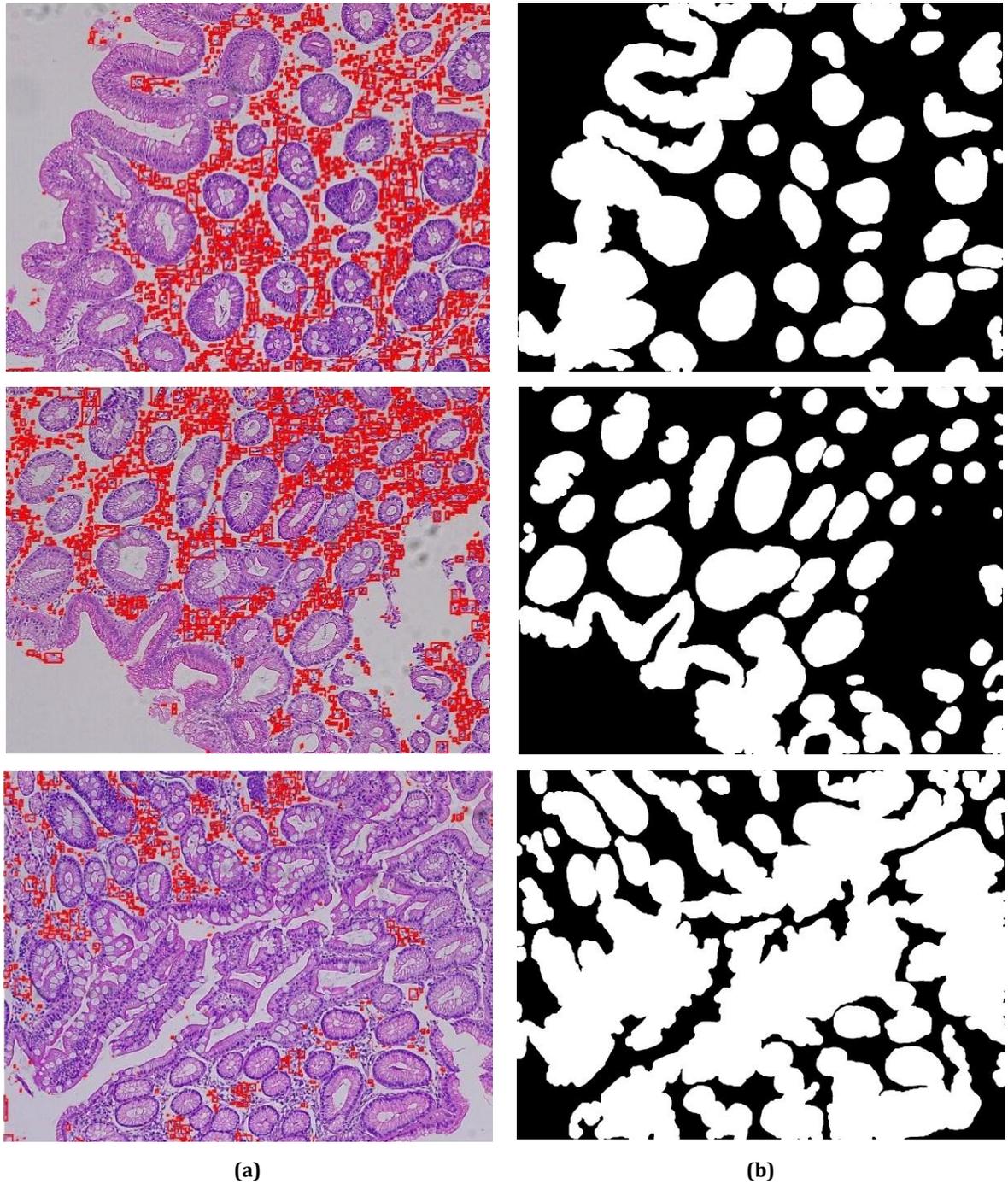


Figura 4.4. Obtención de la máscara. (a) Detección de "ruido". (b)Mascara de la zona glandular con eliminación de "ruido"

4.3.2. SEGMENTACIÓN DE GLÁNDULAS.

Sobre la imagen binaria obtenida en la Figura 4.4 (C), se realiza un etiquetado para reconocer las características de las glándulas presentes en la imagen de la muestra histológica (Figura 4.5 (a)). Luego realizando la operación lógica AND, entre la imagen obtenida en la Figura 4.4 (c) con la imagen original filtrada, se genera una imagen donde se observa claramente la segmentación de las glándulas de la muestra histológica.

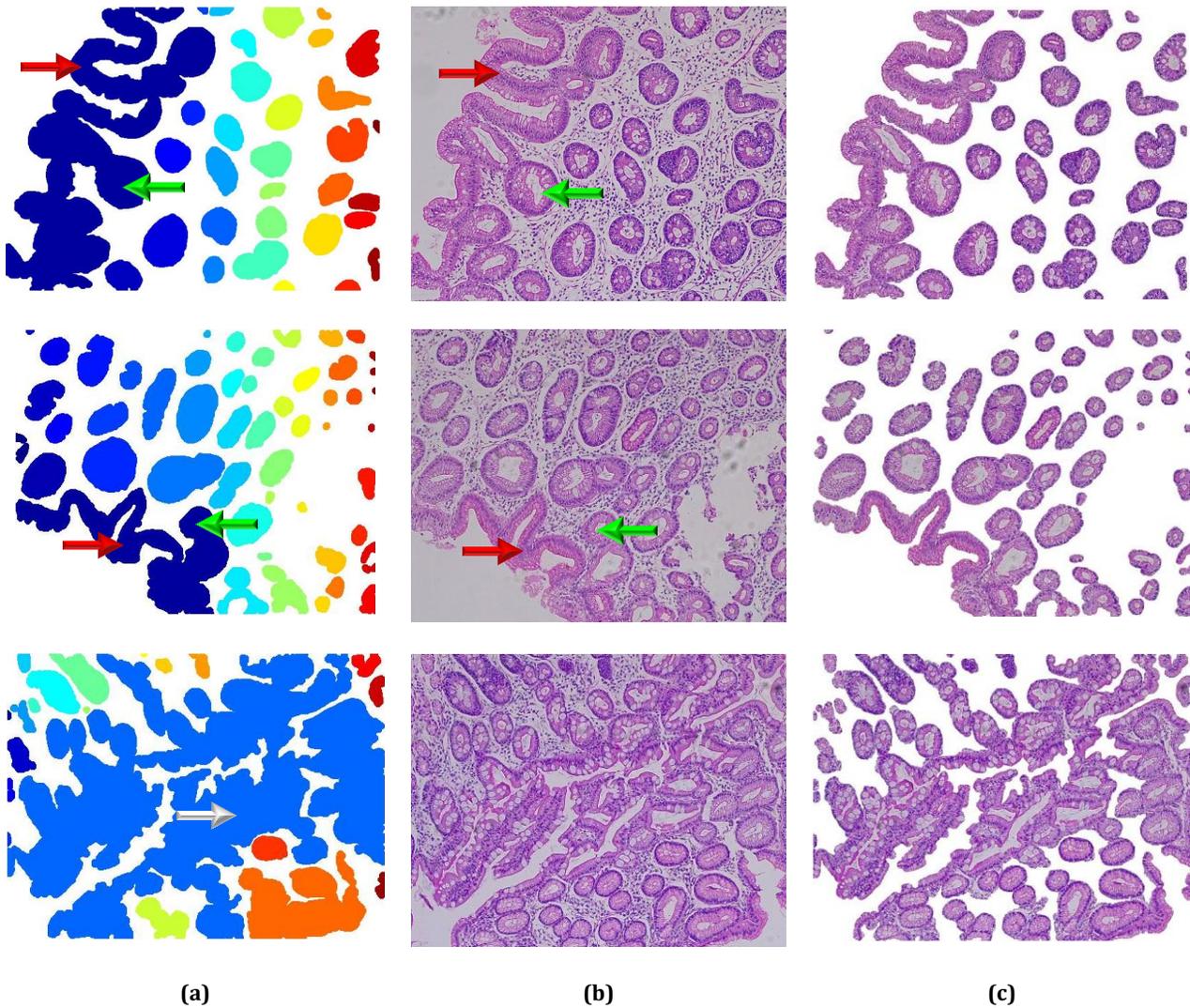


Figura 4.5. Segmentación de glándulas de la mucosa gástrica. (a) Etiquetado de zona de trabajo correspondiente a las glándulas de la mucosa gástrica (b) Imagen original filtrada. (c) segmentación de glándulas de la mucosa gástrica

La Figura 4.5. (a) muestra el etiquetado posterior a la binarización de la imagen. La mayoría de las etiquetas corresponden a glándulas de la mucosa gástrica, sin embargo se observa una sección de mayor área y longitud respecto al resto de las etiquetas, esta zona señalada con flechas rojas y corresponde al epitelio cilíndrico de la mucosa gástrica y algunas glándulas que no fueron correctamente segmentadas y se indican con flechas verdes. La mayoría de las glándulas de la mucosa gástrica, en la imagen tienen una apariencia circular y ovalada debido al corte transversal realizado en la preparación de la muestra, caso diferente es observado en la etiqueta señalada con la flecha blanca, donde se muestra una gran sección de características glandulares con células caliciformes, esta marcada diferencia de tamaño y de forma respecto a las otras glándulas, se debe a que el corte realizado es longitudinal en la glándula. En la Figura 4.5. (b) se muestra la imagen que ha sido filtrada para su procesamiento, estas imágenes han sido modificadas con la operación lógica AND aplicada con la máscara de binarización mostrada en Figura 4.2. (b), obteniendo como resultado las imágenes de la Figura 4.5. (c) que corresponden a la segmentación de las glándulas.

4.3.3. SEGMENTACIÓN DE NÚCLEOS.

Para segmentar núcleos, se parte de la zona glandular obtenida la Figura 4.5 (c), que contiene la información de las células presentes en cada glándula. En la imagen mencionada, se implementa el algoritmo descrito en la sección 3.3.4 con lo cual se distingue los bordes de los elementos presentes en la imagen, el resultado se muestra en la Figura 4.6. En la Figura 4.6 (a) se visualiza una glándula que corresponde a la segmentación obtenida en la primer imagen de la columna (c) de la Figura 4.5, en la que se distinguen bordes borrosos que impiden una adecuada segmentación de los núcleos celulares como se indica con la flecha amarilla. La Figura 4.6 (b) es el resultado del realce de bordes de los elementos presentes en la glándula en especial el de los núcleos como se indica con la flecha verde.

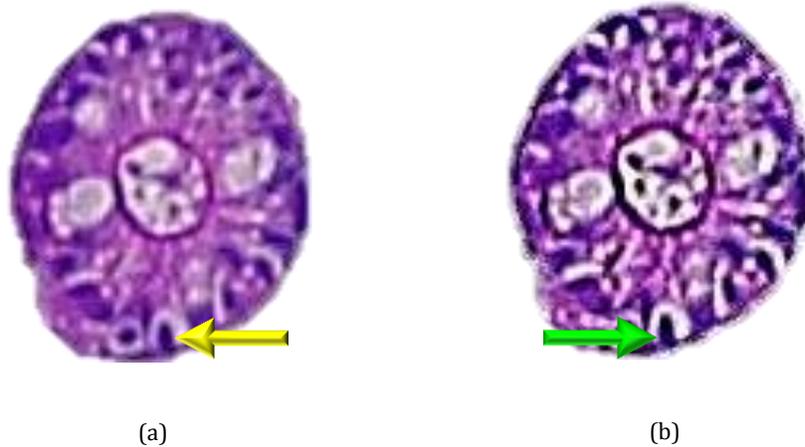


Figura 4.6. Realce. (a) Imagen de una glándula obtenida en la etapa anterior. (b) Contraste de (a)

Luego, modificando el plano de intensidad y saturación obtenido de la descomposición de la imagen en sus componentes HSI, se consiguió saturar los núcleos de color azul, resaltar el citoplasma de rosado y “limpiar” las luces glandulares como se observa en la Figura 4.7 (a). Posteriormente, se aplicó el algoritmo de K-medias, consiguiendo el clouster correspondiente a la caracterización de los núcleos (Figura 4.7 (b)), que aún conserva información relacionada con los bordes glandulares y finalmente filtrada al realizar la binarización como se presenta en la Figura 4.7 (c).

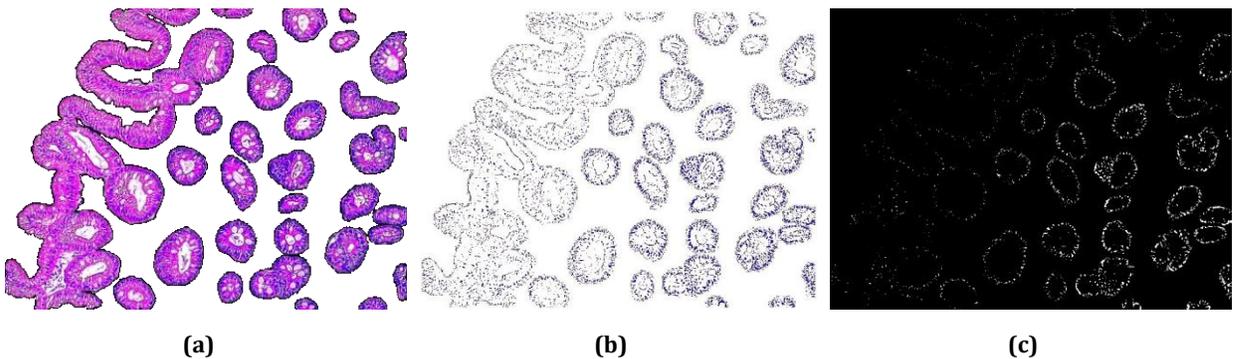


Figura 4.7. Binarización de los núcleos celulares. (a) Imagen con una mejora de color. (b) Clúster perteneciente a los núcleos. (c) Núcleos de (b) binarizados.

4.3.4. SEGMENTACIÓN DE CÉLULAS CALICIFORMES, METAPLASIA INTESTINAL.

A partir del resultado obtenido de la figura 4.5 (c), se realiza la descomposición de la imagen en sus componentes RGB, luego se elige el plano verde (G), teniendo en cuenta que en este plano de color la información correspondiente a los núcleos celulares y el citoplasma no son relevantes, debido a que los núcleos contienen información correspondiente al plano azul de espacio RGB, además el citoplasma presenta mayor influencia en el plano R del mismo espacio, siendo ideal el plano verde para la segmentación de las células caliciformes, como se observa en la Figura 4.8 (a).

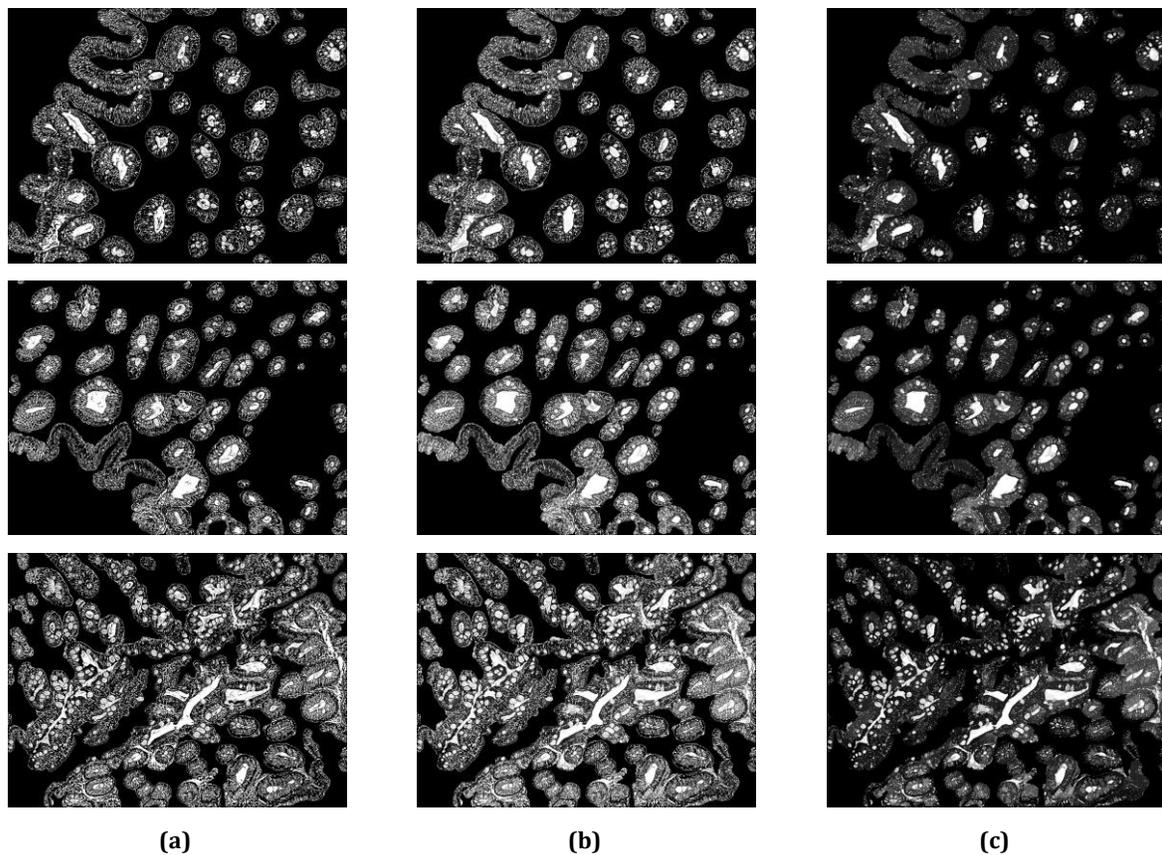


Figura 4.8. Pre-procesado a la Zona de Metaplasia (a) Selección del Canal Verde. (b) Se Rellenan Agujeros (c) Apertura y Erosión.

En la columna (b) de la Figura 4.8 se observa el resultado de aplicar técnicas para rellenar agujeros en la escena, logrando mayor uniformidad de la intensidad de los de pixeles dentro de las zonas correspondientes a las luces glandulares y células

caliciformes. En la Figura 4.8 (c) se muestra el resultado de la aplicación de operaciones morfológicas de apertura y erosión para limpiar los bordes de las células caliciformes.

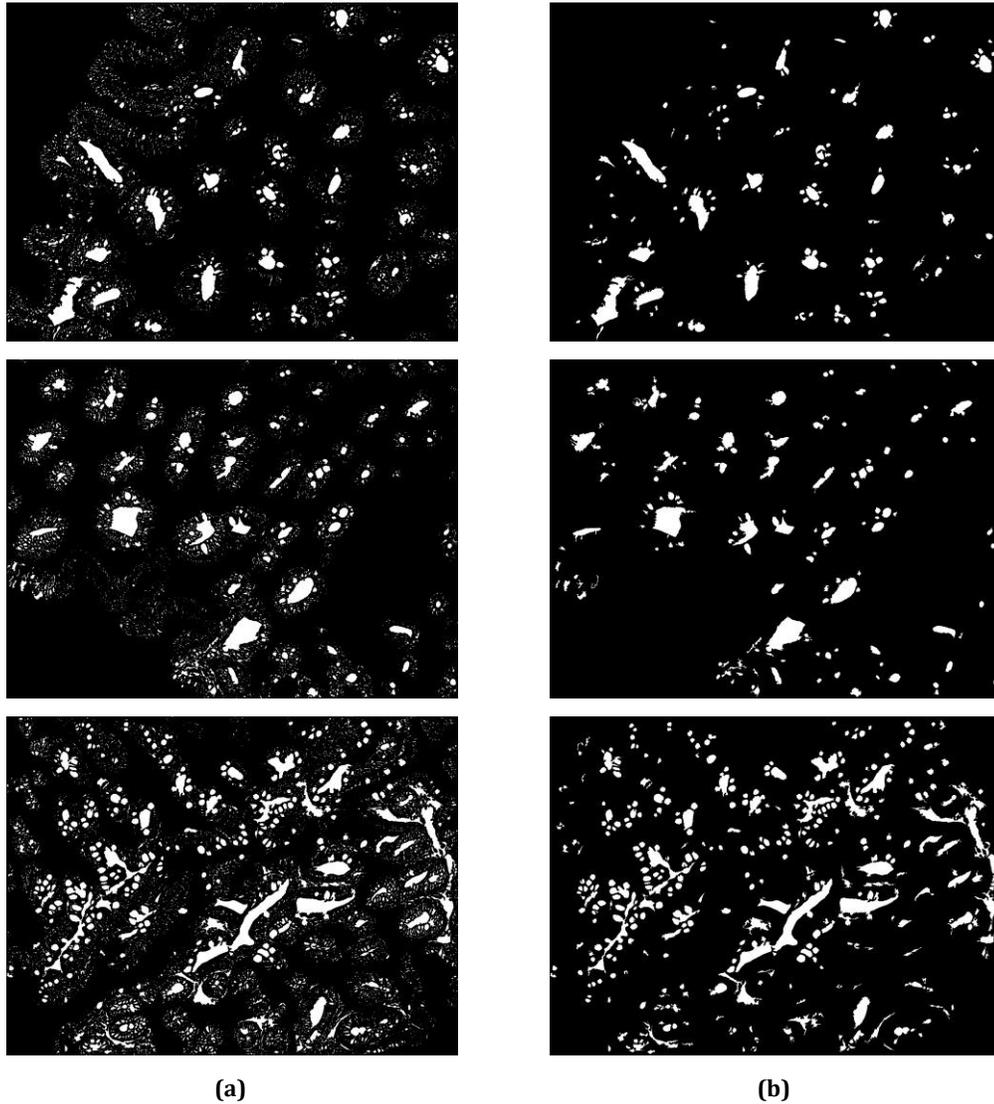


Figura 4.9. Binarización de las células con Metaplasia. (a) Binarización de 4.8 (c). (b) Eliminación de Pequeñas Áreas.

En el resultado previamente obtenido aun es distinguible: las luces glandulares que son las zonas blancas de mayor superficie, el citoplasma representado por zonas grises alrededor de las luces glandulares y las células caliciformes, razón por la cual se requiere

el uso de más técnicas de procesamiento de imágenes para segmentar adecuadamente las células caliciformes. Entonces se procede a binarizar la imagen discriminando los niveles de gris correspondientes a un umbral que permite eliminar las zonas representativas del citoplasma como se muestra en la Figura 4.9 (a).

Luego de binarizar la imagen, se observa una reducción considerable del área citoplasmática, pero aún se conservan muchos elementos de las luces glandulares y pequeños puntos blancos que no corresponden a células caliciformes. Estos puntos blancos al ser comparados con las células caliciformes tienen una marcada diferencia debido al área que estos ocupan, por lo cual se eliminan de la escena los puntos blancos que tienen un tamaño mucho menor al tamaño de las células caliciformes, obteniendo como resultado una imagen más limpia como se muestra en la Figura 4.9 (b).

La eliminación de las pequeñas zonas blancas permite obtener una nueva imagen binaria con presencia de luces glandulares y células caliciformes. Estos dos elementos de la imagen binaria tienen un agrupamiento con formas similares “Ramilletes de uvas” (Figura 4.9 (b)), donde las luces glandulares podrían ser comparados con los tallos que sostienen a las uvas. Debido a que la metaplasia intestinal presenta un patrón semejante a formas circulares y que además se localizan en cercanías de las luces glandulares, en los “Ramilletes de uvas” la metaplasia intestinal es comparable con las uvas. En los ramilletes de uvas, deben ser eliminados de la escena los tallos o luces glandulares, para así obtener la imagen binaria con presencia de metaplasia intestinal. Para ello se considera que las células caliciformes tienen una geometría similar entre ellas, con tendencias a formas circulares y ovaladas, por lo cual se utiliza el factor de forma como criterio discriminante, obteniendo una imagen binaria donde las zonas blancas que no adquieren el patrón circular son eliminadas de la escena. Como resultado de lo mencionado anteriormente, se obtiene la segmentación de las células caliciformes como se muestra en las Figuras 4.10.

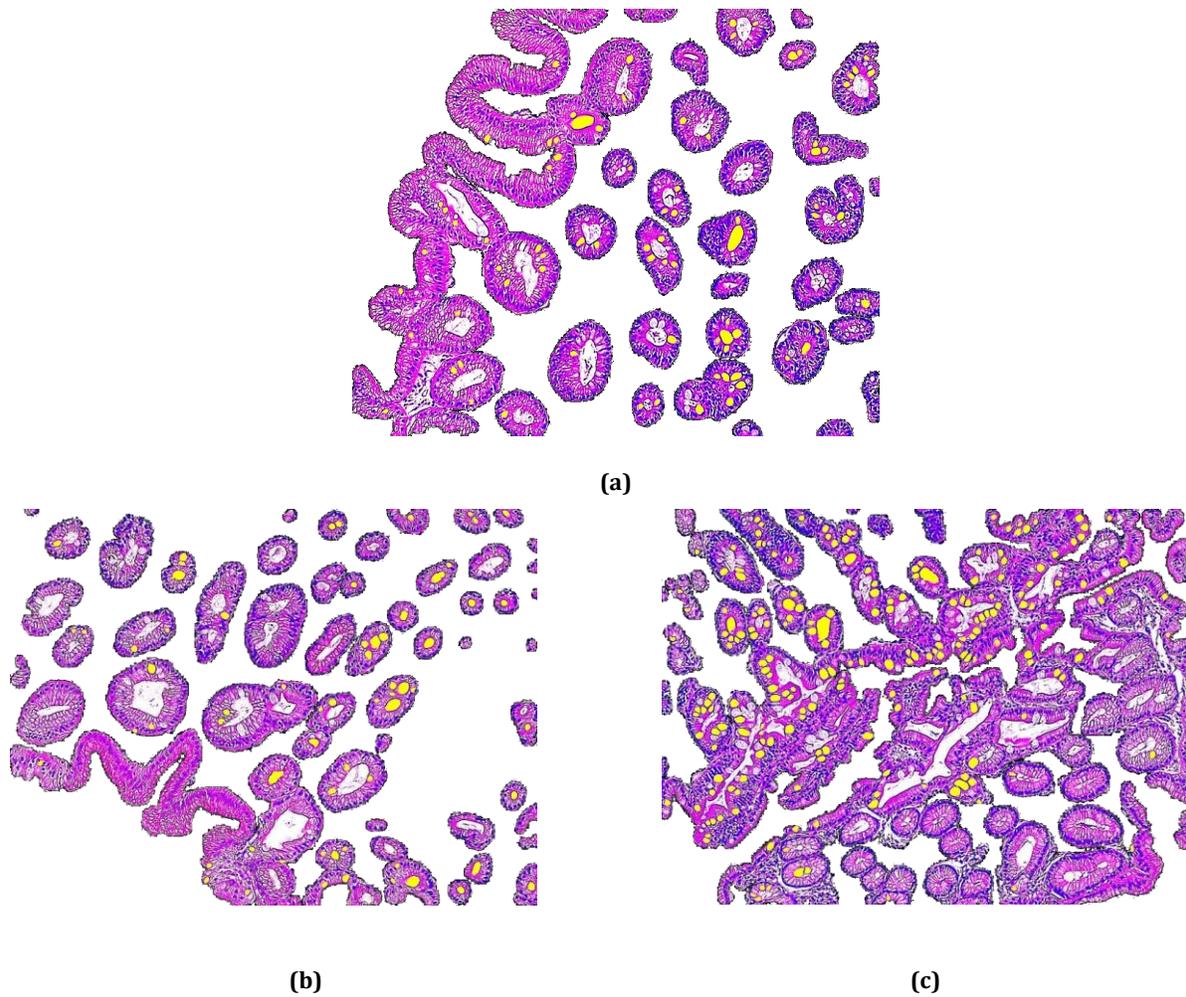


Figura 4.10. Segmentación de las células caliciformes indicadoras de metaplasia intestinal.

Las células caliciformes se muestran segmentadas sobre la escena con color amarillo. Sin embargo el algoritmo empleado para la segmentación de metaplasia intestinal presenta algunas fallas como se muestra en la Figura 4.11.

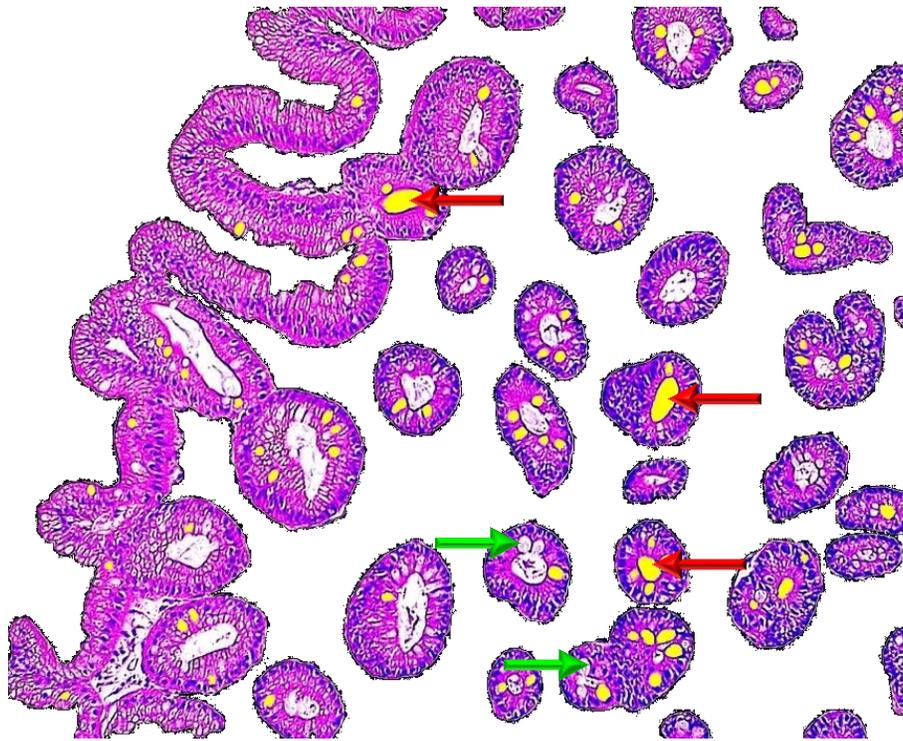


Figura 4.11. Fallos del sistema. Las flechas rojas indican luces glandulares identificadas como metaplasia intestinal. Las flechas verdes indican las células caliciformes no segmentadas.

Entre las fallas observadas para segmentar metaplasia intestinal, se destaca la segmentación de luces glandulares como si fuese célula caliciforme, el fallo se indica en la Figura 4.11 con flechas rojas, esto se debe a la forma ovalada que tiene algunas luces glandulares, las cuales no son discriminadas por el factor de forma empleado para segmentar metaplasia. Las flechas verdes indican células caliciformes no segmentadas, esto debido a que las células caliciformes presentan un solapamiento con las luces glandulares o solapamiento con otras células caliciformes, por lo cual se pierde la circularidad de la metaplasia y son discriminadas por el factor de forma, con lo cual estos elementos no son segmentados por el sistema.

4.3.5. CONTEO DE GLÁNDULAS GÁSTRICAS Y CÉLULAS CALICIFORMES.

A continuación se procede a hacer la comparación entre la determinación manual de las glándulas realizado por el Patólogo y las detectadas por el algoritmo (Figura 4.12).

4.3.5.

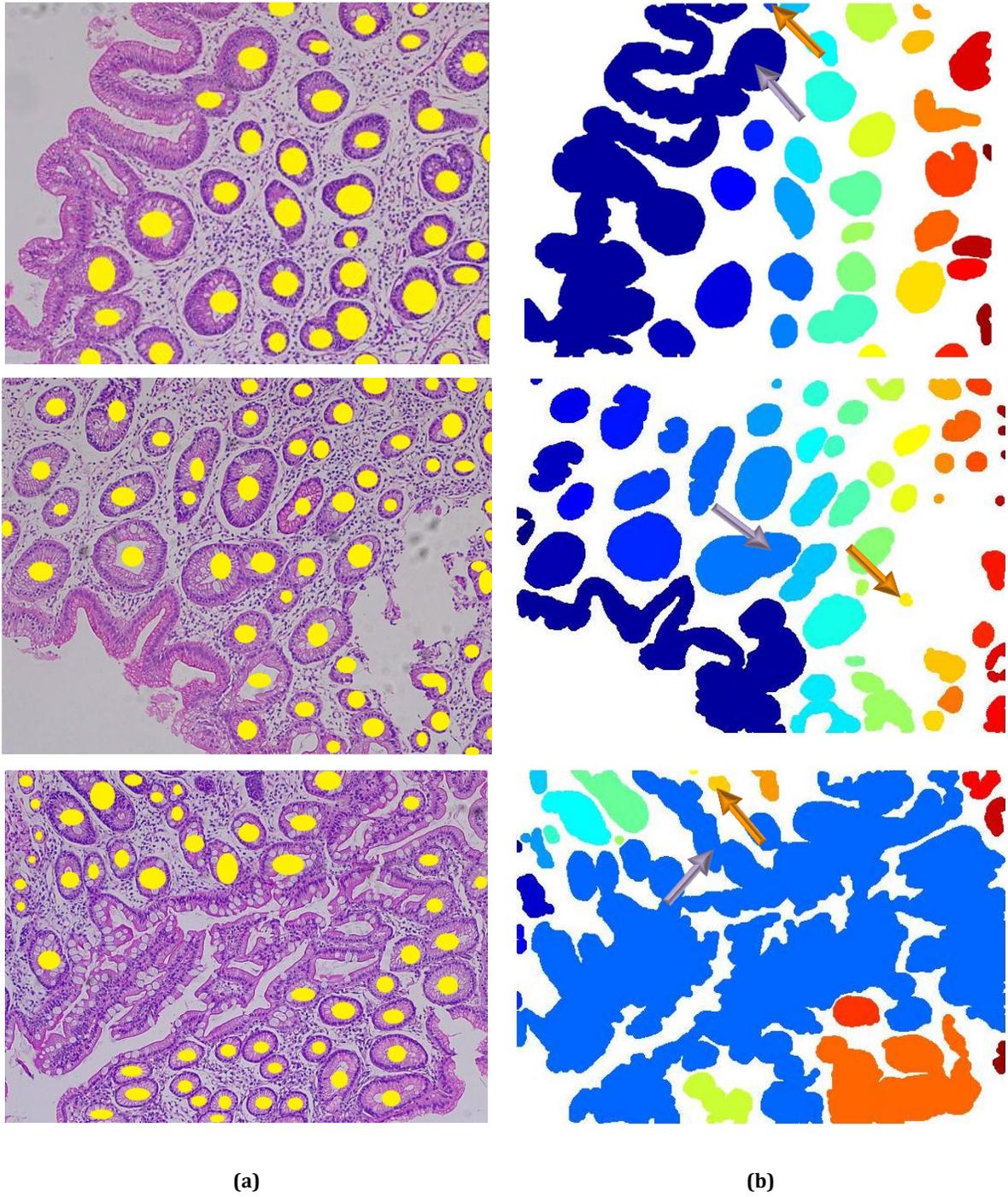


Figura 4.12. Reconocimiento y conteo de glándulas. (a) Reconocimiento y conteo manual de glándulas. (b) Reconocimiento y conteo de glándulas realizada por el sistema.

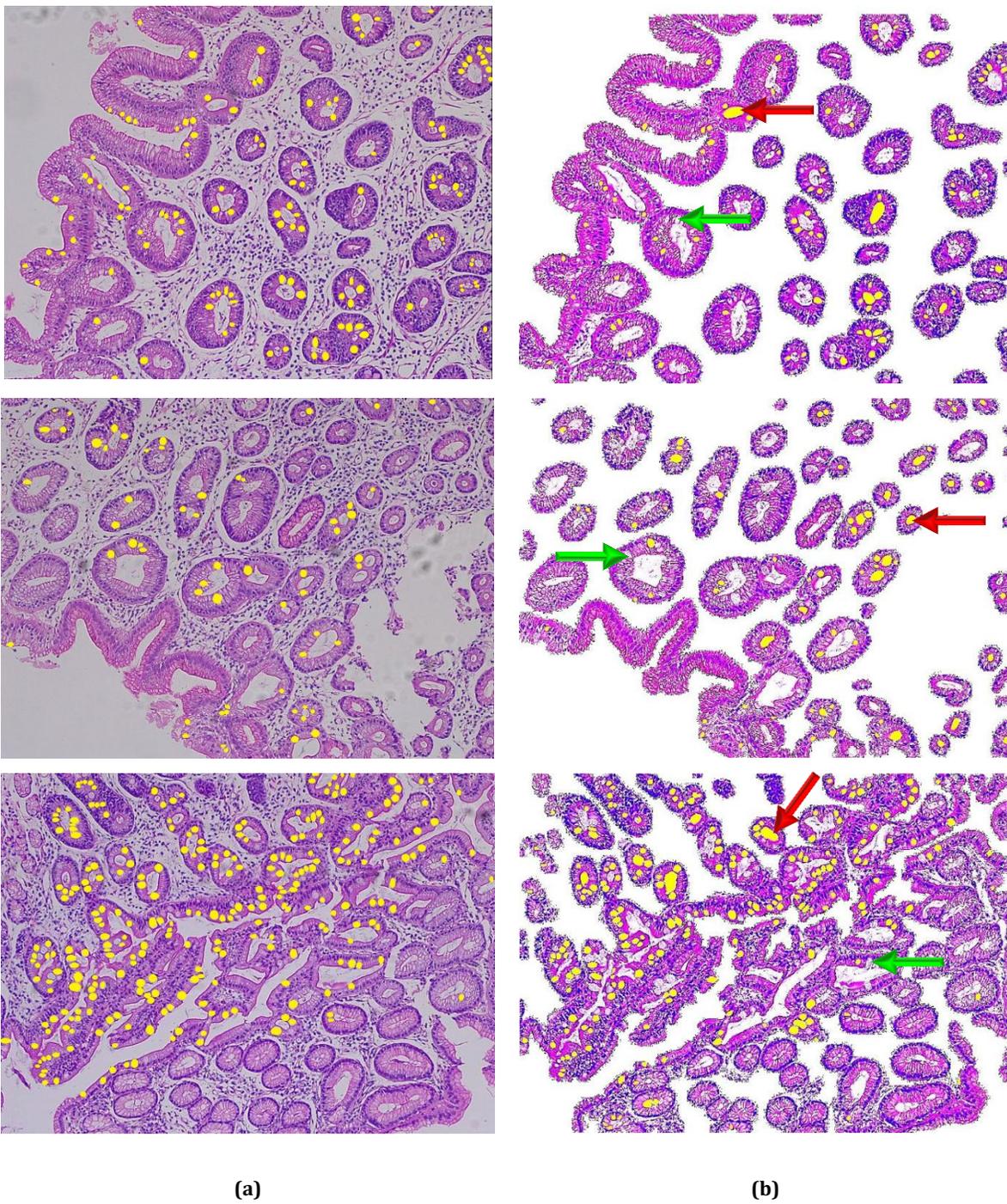


Figura 4.13. Reconocimiento y conteo de células con metaplasia. 3. (a) Reconocimiento y conteo manual de células con metaplasia. (b) Reconocimiento y conteo de células con metaplasia realizada por el sistema.

En la Figura 4.12 (a) se evidencian con color amarillo las glándulas reconocidas por el Patólogo, mientras en la Figura 4.12 (b), se muestran las etiquetas de las glándulas reconocidas por el algoritmo, donde se ha marcado con flechas moradas el tipo de fallo que se presenta cuando no logra identificar algunas glándulas (Falsos negativos) por estar muy juntas y con flechas naranja los elementos que son detectados como glándulas y que en realidad no los son (Falsos positivos). Luego se realizó la comparación entre las células caliciformes determinadas por el Patólogo con las detectadas por el sistema como se presenta en la Figura 4.13.

La Figura 4.13 (a) presenta en color amarillo las células caliciformes determinadas manualmente por el Patólogo. En la Figura 4.13 (b), además de evidenciar las células caliciformes detectadas por el sistema, se muestra con flechas rojas el tipo de fallo que corresponde a los falsos positivos, debido a que detecta algunas luces glandulares como células caliciformes dada la similitud en su forma, mientras que con flechas verdes se ilustra los falsos negativos que hace alusión a las células caliciformes que no detecto el sistema.

Con las imágenes anteriormente descritas se procede a hacer el cálculo numérico para determinar el grado de concordancia del algoritmo empleado para el reconocimiento de glándulas lesionadas con presencia de células caliciformes. Figura 4.12 y la Figura 4.13. Los resultados obtenidos se muestran en las tablas 4.1, 4,2 y 4,3. Además se realizó la valoración del desempeño de los algoritmos empleados, comparando con valores del sistema ROC para diagnóstico médico y análisis de la concordancia con los valores típicos del coeficiente Kappa que se muestran en la Tabla 4.4, Tabla 4.5. y en la Figura 4.14.

Tabla 4.1. CONTEO MANUAL DE GLÁNDULAS LESIONADAS CON METAPLASIA INTESTINAL

CONTEO MANUAL		
Glándulas con metaplasia intestinal	Glándula sin metaplasia intestinal	Total glándulas
138	137	275

Tabla 4.2 CONTEO REALIZADO POR EL SISTEMA DE GLÁNDULAS LESIONADAS CON METAPLASIA INTESTINAL

CONTEO DEL SISTEMA		
Glándulas con metaplasia intestinal	Glándula sin metaplasia intestinal	Total glándulas
138	137	275

Tabla 4.3. PORCENTAJE DE ACIERTO: CONTEO MANUAL VS CONTEO DEL SISTEMA

Porcentaje de acierto	
Conteo de glándulas	87,27%
Glándulas con metaplasia intestinal	86,23%
Glándulas sin metaplasia intestinal	88,32%

TABLA 4.4 MATRIZ DE CONFUSIÓN, SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DEL SISTEMA

Valor predictivo		Condición verdadera	
		Ausente	Presente
sistema	Negativo	88,32	11,68
	Positivo	13,77	86,23
Sensibilidad 88,07%		Especificidad 86,51%	

Tabla 4.5. DESEMPEÑO DEL SISTEMA ROC Y COEFICIENTE DE CONCORDANCIA KAPPA

Desempeño del sistema	Coefficiente ROC	Concordancia kappa
Coefficiente	0,88	0,87
Valoración	Test bueno	Concordancia considerable

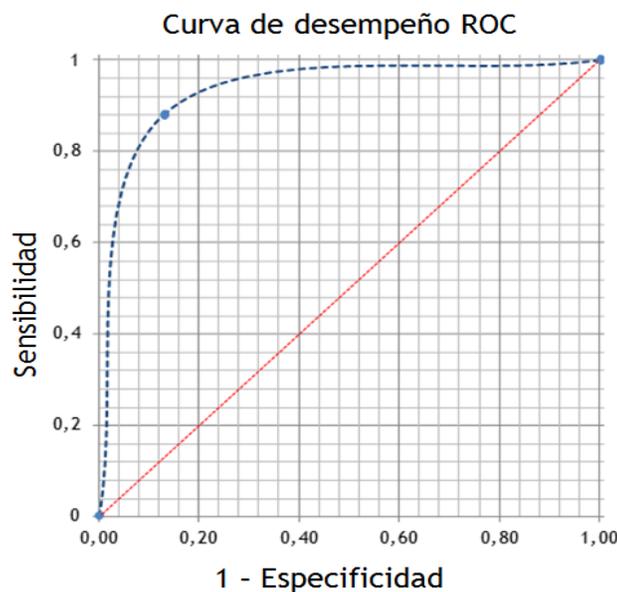


Figura 4.14. Curva de desempeño ROC

4.3.6. ESTADIFICACIÓN DE ATROFIA GÁSTRICA CON METAPLASIA INTESTINAL.

Finalmente con los datos obtenidos, se procede a realizar los cálculos respectivos para hallar el porcentaje de glándulas afectadas, tanto de forma automática como de la forma manual, de las muestras presentadas en las Figuras 4.13 y 4.14, con lo que se obtienen los resultados presentes en la tabla 4.6.

TABLA 4.6. PORCENTAJE DE GLÁNDULAS GÁSTRICAS AFECTADAS POR METAPLASIA INTESTINAL.

GLÁNDULAS AFECTADAS AUTOMÁTICAMENTE	% GLÁNDULAS AFECTADAS AUTOMÁTICAMENTE	GLÁNDULAS AFECTADAS MANUALMENTE	% GLÁNDULAS AFECTADAS MANUALMENTE
19	59,38	19	51,35
19	36,54	22	38,60
5	25,00	25	49,02

Por lo tanto utilizando como referente el sistema OLGIM para la estadificación se determinan los puntajes para las imágenes de las muestras descritas con anterioridad como se muestra en la Tabla 4.7.

Tabla 4.7. ESTADIFICACIÓN AUTOMÁTICA VS ESTADIFICACIÓN MANUAL.

A N T R O	Imagen Histológica	Estadío Automático	Estadío Manual
	Muestra 1	2	2
	Muestra 2	2	2
	Muestra 3	1	2
sin Metaplasia:		0%	puntaje 0
Metaplasia leve:		1-30%	puntaje 1
Metaplasia moderada:		31-60%	puntaje 2
Metaplasia severa:		>60%	puntaje 3

Se identifica en la tabla que para la muestra 3, no hay una correlación entre en el estadío determinado por el patólogo manualmente con el estadío determinado por el sistema de forma automática, esto debido a la irregularidad de los cortes de la glándulas que están en las muestras.

5. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.

Se estadificó el grado de atrofia gástrica con metaplasia intestinal, desarrollando un sistema de visión artificial que utiliza técnicas de procesamiento digital de imágenes aplicadas a histopatologías de mucosa gástrica de la región antral del estómago.

Se desarrolló un sistema de visión artificial capaz de estadificar atrofia gástrica con presencia de metaplasia intestinal, analizando por computadora imágenes histológicas de mucosa gástrica obtenidas de biopsias del antro pilórico. Las imágenes histológicas con previo diagnóstico clínico de atrofia glandular con presencia metaplasia intestinal, fueron procesadas por el sistema desarrollado, que permitió cuantificar glándulas lesionadas por metaplasia intestinal ocasionada por *H. pylori* y glándulas no lesionadas esto tomando como referente los valores establecidos por el sistema OLGIM, realizando un conteo automático de las glándulas gástricas y las células caliciformes, para luego determinar el porcentaje de glándulas con presencia de metaplasia intestinal. Los resultados obtenidos fueron comparados con el diagnóstico realizado por el Departamento de Patología del Hospital Universitario San José, observándose una buena correlación entre el sistema de visión artificial y el diagnóstico previamente establecido. A pesar de la dificultad existente para analizar imágenes histológicas de mucosa gástrica, el sistema de visión artificial desarrollado permite extraer información esencial para el posterior análisis y diagnóstico de la lesión precancerosa estudiada en este trabajo.

Con el desarrollo del sistema de visión artificial fue posible cuantificar y reconocer las glándulas gástricas y las células caliciformes presentes en las imágenes de las muestras histológicas. Relacionando estos descriptores fue posible determinar el porcentaje de glándulas afectadas por este tipo de células, dicho porcentaje es el valor numérico esencial para establecer el grado de la lesión de la mucosa gástrica tomando como referencia lo establecido por OLGIM. El conteo de glándulas realizado por el sistema tiene un grado de acierto del 87,7%, a pesar de la dificultad que representa identificarlas los resultados alcanzados por el sistema tienen una buena correlación con la identificación manual de glándulas. Caso contrario sucede con el conteo de células

caliciformes, pues se observa un distanciamiento considerable debido a que el acierto del conteo es del 63,54%, esto se corrobora al comparar los resultados del conteo realizado por el sistema desarrollado con el conteo manual realizado por el Patólogo. A pesar del distanciamiento en el conteo de metaplasia intestinal, se realizó una buena aproximación del diagnóstico de la lesión de la mucosa gástrica con acierto del 86,23%, pues para estadificar es necesario establecer el número de glándulas afectadas con metaplasia intestinal, y tan solo basta con que haya presencia una sola célula caliciforme sobre la glándula gástrica para ser contada como glándula afectada, haciendo que el número de desaciertos en el conteo de células caliciformes no sea decisivo para determinar la severidad de la lesión analizada en este trabajo.

El desarrollo del sistema de visión artificial expuesto en este trabajo, podría convertirse en una herramienta cuantitativa que ayude a los patólogos a realizar el diagnóstico de lesiones de la mucosa gástrica, ocasionadas por *Helicobacter pylori*, reduciendo la variabilidad inter-observador e intra-observador, debido a que la asistencia y valoración que realiza este sistema se encuentra cuantificada, lo que permitiría seleccionar objetivamente los pacientes con riesgo de carcinoma para su seguimiento y así brindar tratamiento oportuno, otorgando al sistema desarrollado una gran importancia considerando que en Colombia y en particular en el Departamento del Cauca, el cáncer gástrico es una de las causas de mortalidad de mayor incidencia y la detección temprana de lesiones previas al adenocarcinoma podría salvar vidas debido a que algunas de estas enfermedades son reversibles con el tratamiento médico adecuado.

Perspectivas futuras.

La revisión bibliográfica realizada en este trabajo sugiere un gran campo de acción en el análisis de imágenes médicas y en particular de imágenes histológicas, en los que el procesamiento digital de imágenes se convierte en una herramienta complementaria y fundamental para el análisis, razón por la cual, a futuro se plantea:

Explorar la aplicación de los algoritmos expuestos en este trabajo en otro tipo de lesiones sobre la mucosa gástrica, como la displasia y la detección misma del cáncer gástrico.

Implementar una interfaz que sea amigable con el usuario y que facilite la aplicación de los algoritmos desarrollados para detección de lesiones de la mucosa gástrica.

Automatizar la aplicación de algoritmos para la detección de enfermedades sobre la mucosa gástrica y crear una base de datos solida con casos clínicos diagnosticados con este tipo de lesiones, para determinar una prioridad en la atención de casos más severos.

Con las modificaciones de color realizadas sobre las imágenes histológicas, se podría construir una herramienta didáctica para el aprendizaje de los estudiantes de histología, además de implementarla en el estudio de otro tipo de tejidos con tinción H-E.

Reconocimientos.

Dr. HAROLD JOFRE BOLAÑOS, Departamento de Patología - Hospital Universitario San José de Popayán y docente de la Facultad de Medicina de la Universidad del Cauca. Por facilitar las placas de muestras de mucosa gástrica con diagnóstico de gastritis crónica atrófica con metaplasia intestinal.

HISTOTÉCNICO ALBEIRO POLANCO, Departamento de Morfología - Universidad del Cauca. Por su colaboración con la adquisición de imágenes de las placas con las muestras de mucosa gástrica.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- [1] J. A. Cancelas, R. C. González, I. Álvarez, and J. M. Enguita, *Procesamiento Morfológico, Visión 3D: Estereoscopía, Álgebra lineal básica para visión por computador, Geometría Proyectiva para Visión 3D*, vol. 1. 2016.
- [2] R. C. Gonzalez, *Digital Image Processing*, vol. 14, no. 3. 2002.
- [3] J. Xu, A. Janowczyk, S. Chandran, and A. Madabhushi, "A high-throughput active contour scheme for segmentation of histopathological imagery," *Med. Image Anal.*, vol. 15, no. 6, pp. 851–862, 2011.
- [4] S. Wienert *et al.*, "Detection and Segmentation of Cell Nuclei in Virtual Microscopy Images : A Minimum-Model Approach," pp. 1–7, 2012.
- [5] J. M. Gisbert and J. P. Pajares, "Helicobacter pylori : su descubrimiento e importancia en la medicina," vol. 98, no. 10, pp. 778–785, 2006.
- [6] P. Correa and M. B. Piazuelo, "Natural history of Helicobacter pylori infection," vol. 40, no. 7, pp. 490–496, 2011.
- [7] M. Hernández Triana, "Helicobacter pylori. La bacteria que más infecta al ser Humano," *Rev Cuba. Aliment Nutr*, vol. 15, no. 1, pp. 42–54, 2001.
- [8] L. E. Bravo, A. Cortés, and M. D. E. Carrascal, "Helicobacter pylori: patología y prevalencia en biopsias gástricas en Colombia," vol. 34, no. 3, pp. 124–131, 2003.
- [9] P. Correa, "Cáncer gástrico: una enfermedad infecciosa," *Rev Colomb. cir.*, pp. 111–117, 2011.
- [10] L. G. Capelle, A. C. De Vries, J. Haringsma, and F. Ter Borg, "The staging of gastritis with the OLGA system by using intestinal metaplasia as an accurate alternative for atrophic gastritis," *YMGE*, vol. 71, no. 7, pp. 1150–1158, 2010.
- [11] M. Rugge *et al.*, "Operative link for gastritis assessment vs operative link on intestinal metaplasia assessment," *World J. Gastroenterol.*, vol. 17, no. 41, pp. 4596–4661, 2011.
- [12] P. Ramirez, A. Angeles, J. Aguirre, R. Herrera, U. Angeles, and J. Gonzales Angulo, "Concordancia en el diagnóstico de atrofia gástrica entre patólogos según el sistema OLGA," 2009.
- [13] M. A. Rubio, A. Porwit, and M. Rondensjo, "Method to quantitate intestinal metaplasia of stomach by image analysis," no. 3m 830, pp. 799–801, 1988.
- [14] P. Khanna, I. Davies, and E. B. Faragher, "Age-Related changes in the stomach of the laboratory Mouse: A Quantitative Morphological study.," *Age Ageing*, vol. 17, no. 4, pp. 257–264, 1988.
- [15] P. A. McCormick, E. A. Sankey, F. Cardin, A. P. Dhillon, N. McIntyre, and A. K.

- Burroughs, "Congestive gastropathy and Helicobacter pylori : an endoscopic and morphometric study," pp. 351–354, 1991.
- [16] I. I. Matalca, F. A. Al-omari, M. A. Al-jarrah, F. N. Obeidat, and F. M. Kanaan, "Image-based discriminating morphological features for gastric atrophy assessment : A step to go further," vol. 204, pp. 235–240, 2008.
- [17] P. Correa and M. B. Piazuelo, "Cáncer gástrico: el enigma colombiano," *Rev Col Gastroenterol*, vol. 25, no. 4, pp. 334–337, 2010.
- [18] M. P. Petersen, C. P. Ramos, Ó. G. Garay, and G. H. Suárez, *Atlas de mortalidad por cáncer en Colombia*. 2010.
- [19] J. C. Adrada, F. H. Calambás, J. E. Díaz, D. O. Delgado, and C. H. Sierra, "Características sociodemográficas y clínicas en una población con cáncer gástrico en el cancer population in the department of Cauca , Colombia," pp. 309–314, 2008.
- [20] R. Pardo, C. Cendales, *Incidencia, mortalidad y prevalencia de Cáncer en Colombia 2007-2011*, vol. 1. 2015.
- [21] J. M. Aristizabal and A. M. Guevara, "Diseño e implementación de un sistema de visión artificial para la identificación del signo del Frank.," pp. 1–92, 2016.
- [22] D. C. Rica, "Procesamiento y Analisis de Imagenes Digitales," 2012.
- [23] M. H. Ross and W. Pawlina, *H istología Texto Y Atlas: Correlacion con biologia celular y molecular.*, 7th editio. 2016.
- [24] N. Digestive and D. Information, "El aparato digestivo y su funcionamiento."
- [25] D. R. Tobergte and S. Curtis, *Guyton y Hall Tratado de Fisiologia Medica*, vol. 53, no. 9. 2013.
- [26] C. B. Boticario and M. A. Cascales, *Digestión y metabolismo energético de los nutrientes*. 2012, pp. 13–33.
- [27] K. L. Moore, A. F. Dalley, and A. M. R. Argur, *Anatomia con orientación clinica*, 6th editio. 2010.
- [28] M. Ross and W. Pawlina, *Histología texto y atlas color con biología celular y molecular*, 7th editio. 2011.
- [29] E. C. García and R. García-gonzález, "Helicobacter pylori y la respuesta inmune," vol. 62, no. 2, pp. 112–118, 2015.
- [30] J. David, M. Marín, S. Consuelo, and H. Riveros, "Hiperplasia linfoide folicular gástrica e infección por Helicobacter pylori en adultos colombianos Gastric Follicular Lymphoid Hyperplasia and Infection by Helicobacter pylori in

Colombian adults,” pp. 148–156, 2009.

- [31] M. Hernández Triana, “Helicobacter pylori: La bacteria que más infecta al ser humano,” vol. 15, no. 1, pp. 42–54, 2001.
- [32] E. Mengual, N. Abreu, N. Molero, A. Fuenmayor, and G. Romero, “Estimación de riesgo de cáncer gástrico en pacientes con gastritis crónica asociada a la infección por Helicobacter pylori en un escenario clínico &,” vol. 78, no. 3, 2015.
- [33] P. Correa and M. B. Piazuelo, “Natural history of Helicobacter pylori/infection,” *NIH Public Access*, vol. 40, no. 7, pp. 490–496, 2011.
- [34] L. Eduardo *et al.*, “Helicobacter pylori: patología y prevalencia en biopsias gástricas en Colombia,” *Colomb. Med.*, vol. 34, no. 3, pp. 124–131, 2003.
- [35] M. Robaszekiewicz, “Faut-il biopsier un patient souffrant de dyspepsie ? Que faire en cas de de me ´ taplasie intestinale ?,” vol. 20, pp. 10–16, 2013.
- [36] L. E. B. Ravo, J. C. B. Ravo, J. L. Ealpe, G. Z. Arama, M. B. Piazuelo, and P. Correa, “Fuentes de variabilidad en el diagnóstico de gastritis atrófica multifocal asociada con la infección por Helicobacter pylori 1 Colombia Médica,” vol. 39, pp. 58–65, 2008.
- [37] B. Pang, Y. Zhang, Q. Chen, Z. Gao, Q. Peng, and X. You, “Cell nucleus segmentation in color histopathological imagery using convolutional networks,” *2010 Chinese Conf. Pattern Recognition, CCPR 2010 - Proc.*, pp. 555–559, 2010.
- [38] O. S. Al-Kadi, “Texture measures combination for improved meningioma classification of histopathological images,” *Pattern Recognit.*, vol. 43, no. 6, pp. 2043–2053, 2010.
- [39] A. B. Tosun, M. Kandemir, C. Sokmensuer, and C. Gunduz-Demir, “Object-oriented texture analysis for the unsupervised segmentation of biopsy images for cancer detection,” *Pattern Recognit.*, vol. 42, pp. 1104–1112, 2009.
- [40] M. N. Gurcan, T. Pan, H. Shimada, and J. Saltz, “Image analysis for neuroblastoma classification: Segmentation of cell nuclei,” *Annu. Int. Conf. IEEE Eng. Med. Biol. - Proc.*, pp. 4844–4847, 2006.
- [41] A. N. Basavanhally *et al.*, “Computerized image-based detection and grading of lymphocytic infiltration in HER2+ breast cancer histopathology,” *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 57, no. 3, pp. 642–653, 2010.
- [42] O. Sertel, U. V. Catalyurek, G. Lozanski, A. Shanaah, and M. N. Gurcan, “An image analysis approach for detecting malignant cells in digitized H&E-stained histology images of follicular lymphoma,” *Proc. - Int. Conf. Pattern Recognit.*, pp. 273–276, 2010.

- [43] J. Kong, O. Sertel, H. Shimada, K. L. Boyer, J. H. Saltz, and M. N. Gurcan, "Computer-aided evaluation of neuroblastoma on whole-slide histology images: Classifying grade of neuroblastic differentiation," *Pattern Recognit.*, vol. 42, no. 2009, pp. 1080–1092, 2009.
- [44] Y. Al-Kofahi, W. Lassoued, W. Lee, and B. Roysam, "Improved automatic detection and segmentation of cell nuclei in histopathology images," *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 57, no. 4, pp. 841–852, 2010.
- [45] J.-R. Dalle, W. K. Leow, D. Racoceanu, A. E. Tutac, and T. C. Putti, "Automatic breast cancer grading of histopathological images.," *Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.*, vol. 2008, no. 2, pp. 3052–3055, 2008.
- [46] M. N. Gurcan, L. E. Boucheron, A. Can, A. Madabhushi, N. M. Rajpoot, and B. Yener, "Histopathological image analysis: A review," *Biomed. Eng. IEEE Rev.*, vol. 2, pp. 147–171, 2009.
- [47] S. Doyle and S. Agner, "Automated grading of breast cancer histopathology using spectral clustering with textural and architectural image features," *Cancer*, pp. 496–499, 2008.
- [48] M. Muthu Rama Krishnan *et al.*, "Automated classification of cells in sub-epithelial connective tissue of oral sub-mucous fibrosis-An SVM based approach," *Comput. Biol. Med.*, vol. 39, no. 12, pp. 1096–1104, 2009.
- [49] D. Altunbay, C. Cigir, C. Sokmensuer, and C. Gunduz-Demir, "Color graphs for automated cancer diagnosis and grading," *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 57, no. 3, pp. 665–674, 2010.
- [50] S. Naik, S. Doyle, S. Agner, A. Madabhushi, M. Feldman, and J. Tomaszewski, "Automated gland and nuclei segmentation for grading of prostate and breast cancer histopathology," *2008 5th IEEE Int. Symp. Biomed. Imaging From Nano to Macro, Proceedings, ISBI*, no. c, pp. 284–287, 2008.
- [51] O. Sertel, U. V. Catalyurek, H. Shimada, and M. N. Gurcan, "Computer-aided prognosis of neuroblastoma: Detection of mitosis and karyorrhexis cells in digitized histological images," *Proc. 31st Annu. Int. Conf. IEEE Eng. Med. Biol. Soc. Eng. Futur. Biomed. EMBC 2009*, pp. 1433–1436, 2009.
- [52] P. S. Umesh Adiga and B. B. Chaudhuri, "Region based techniques for segmentation of volumetric histo-pathological images," *Comput. Methods Programs Biomed.*, vol. 61, pp. 23–47, 2000.
- [53] H. Fatakdawala *et al.*, "Expectation-maximization-driven geodesic active contour with overlap resolution (EMaGACOR): Application to lymphocyte segmentation on breast cancer histopathology," *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 57, no. 7, pp. 1676–1689, 2010.

- [54] J. C. Lorca, "Uso de curvas ROC en investigación clínica. Aspectos teórico-prácticos," *Lab. e infectología*, vol. 29, pp. 138–141, 2012.
- [55] J. C. L and L. V. D. E. L. P, "Evaluación de la concordancia inter-observador en investigación pediátrica : Coeficiente de Kappa," vol. 79, no. 1, pp. 54–58, 2008.