

**Instituto Tecnológico de Costa Rica**

**Escuela de Ingeniería Electrónica**



**“Detección de carriles y rectificación de imágenes de geles de electroforesis utilizando modelos activos de forma”**

**Informe de Proyecto de Graduación para optar por el título de Ingeniero en Electrónica con el grado académico de Licenciatura**

**Pablo Barrantes Chaves**

**Cartago, 23 de junio de 2010**

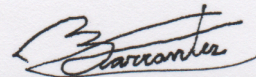
## Declaratoria de autenticidad

Declaro que el presente Proyecto de Graduación ha sido realizado enteramente por mi persona, utilizando y aplicando literatura referente al tema e introduciendo conocimientos propios.

En los casos en que he utilizado bibliografía, he procedido a indicar las fuentes mediante las respectivas citas bibliográficas.

En consecuencia, asumo la responsabilidad total por el trabajo de graduación realizado y por el contenido del correspondiente informe final.

Cartago, 23 de junio de 2010



---

Pablo Barrantes Chaves  
1-1288 0104

**Instituto Tecnológico de Costa Rica**


**Escuela de Ingeniería Electrónica**

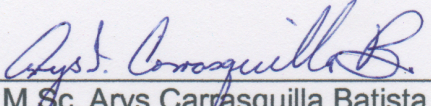
**Proyecto de Graduación**

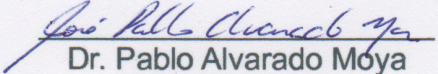
**Tribunal Evaluador**

Proyecto de Graduación defendido ante el presente tribunal evaluador como requisito para optar por el título de Ingeniería en Electrónica con el grado académico de Licenciatura, del Instituto Tecnológico de Costa Rica.

Miembros del tribunal

  
M.Sc. Eduardo Interiano Salguero  
Profesor Lector

  
M.Sc. Arys Carrasquilla Batista  
Profesora Lectora

  
Dr. Pablo Alvarado Moya  
Profesor Asesor

Los miembros de este tribunal dan fe de que el presente trabajo de graduación ha sido aprobado y cumple con las normas establecidas por la Escuela de Ingeniería Electrónica.

Cartago, 23 de junio del 2010

## Resumen

El siguiente trabajo se enfoca en la detección de carriles en imágenes de geles de electroforesis utilizados en la caracterización molecular de organismos, aún cuando en éstas existan distorsiones ópticas introducidas en el momento de la adquisición.

Para encontrar los carriles se crea un *Modelo Activo de Forma (Active Shape Model, ASM)* utilizando, para entrenarlo, modelos de distorsión radial teóricos. Se ubican varias instancias de dicho ASM en cada borde de los carriles de la imagen para luego, en un proceso iterativo, acoplar uno con el otro y con el gradiente de la imagen. Hecho esto se obtiene el mapeo inverso que describe la distorsión y generar imágenes rectificadas.

Se analiza el algoritmo propuesto en términos de la desviación media de los carriles respecto a la detección realizada por un humano y la desviación estándar de los carriles luego de la rectificación, ambos evaluados variando parámetros del sistema como el número de puntos utilizados para entrenar el ASM y la cantidad de dimensiones consideradas para representar las formas.

## Abstract

This project is focused on lane detection over images of gel electrophoresis processes, which are used for molecular characterization of organisms, even if optical distortions are present during the acquisition process.

In order to find the lanes an *Active Shape Model (ASM)* is created using, for its training, theoretical distortion models. Several instances of this ASM are placed along the image lanes borders. After that, an iterative process is started to align the models with each other and with the gradient. By doing that it is possible to obtain the inverse mapping that best describes the distortions in order to obtain rectified images.

The algorithm is analyzed in terms of the mean lane deviation from the human lane detection criterion and the lanes standard deviation after rectification, both varying different system parameters like the number of points used to train the ASM and the amount of dimensions considered to model shapes.

*A mis queridos padres...*

## **Agradecimiento**

En primer lugar a Dios, por permitirme llegar hasta este punto en mi preparación profesional llenando de bendiciones mi camino.

A mis padres, que siempre mostraron su apoyo incondicional para salir adelante y que me brindaron la oportunidad y las facilidades necesarias para concluir este proceso educativo.

Finalmente al profesor Dr. Pablo Alvarado Moya por su apoyo y dedicación durante la elaboración del presente trabajo.

# Índice general

Capítulo 1 . Introducción.....	1
1.1 Caracterización molecular utilizando geles de electroforesis .....	1
1.2 Distorsiones presentes en la imagen y su efecto en la detección de carriles.....	2
1.3 Detección de carriles y corrección de las distorsiones.....	4
1.4 Objetivos y estructura del documento.....	5
Capítulo 2 . Marco Teórico.....	6
2.1 Trabajos anteriores en detección de carriles y corrección de distorsión óptica radial.....	6
2.2 Mapeo o proyección de Sammon.....	6
2.3 Detección de bordes.....	7
2.3.1 Redes neuronales artificiales.....	7
2.3.2 Gradiente.....	8
2.4 Modelos Activos de Forma (Active Shape Models).....	10
2.4.1 Etiquetado de los puntos.....	10
2.4.2 Alineación de formas del conjunto de entrenamiento.....	11
2.4.3 Generación de estadísticas a partir del conjunto de entrenamiento alineado.....	12
2.4.4 Recorte (trim) de los pesos de un modelo.....	13
2.4.5 Filtrado en el espacio de pesos.....	13
2.5 Distorsiones ópticas radiales.....	14
2.6 Correlación y autocorrelación.....	15
2.7 Mínimos cuadrados .....	16
2.8 Filtros lineales y no lineales.....	17
Capítulo 3 . Detección de carriles y corrección de las distorsiones.....	19
3.1 Creación del ASM.....	20
3.2 Redes neuronales para detección de bordes.....	21
3.3 Gradiente para detección de bordes.....	22
3.4 Autocorrelación de las columnas del gradiente y estimación del ancho de los carriles.....	23
3.5 Detección de carriles .....	24
3.6 Cálculo de la confiabilidad de una forma.....	25
3.7 Posicionamiento inicial de las formas.....	26
3.8 Proceso iterativo de ajuste.....	26
3.8.1 Ajuste de las formas a los bordes de los carriles.....	27
3.8.2 Recorte de los pesos.....	27
3.8.3 Filtrado en el espacio de pesos.....	27
3.9 Rectificación de la imagen.....	27
Capítulo 4 .Resultados experimentales.....	29
4.1 Creación del ASM.....	29
4.2 Detección de bordes.....	30
4.3 Autocorrelación de las columnas del gradiente.....	34
4.4 Detección de carriles.....	37

4.4.1 Imágenes con separación entre carriles.....	37
4.4.2 Imágenes sin separación entre carriles.....	39
4.5 Rectificación de la imagen.....	41
4.5.1 Imágenes con separación entre carriles.....	41
4.5.2 Imágenes sin separación entre carriles.....	45
Capítulo 5 .Conclusiones y recomendaciones.....	50
5.1 Conclusiones.....	50
5.2 Recomendaciones.....	50

## Índice de figuras

Figura 1.1: Fotografía de un gel de electroforesis.....	1
Figura 1.2: Herramienta desarrollada hasta el primer semestre del 2010.....	2
Figura 1.3: Diagrama de bloques del sistema de la aplicación.....	3
Figura 1.4: Distorsión de barril en una imagen.....	3
Figura 1.5: Proceso ideal de rectificación de una imagen distorsionada.....	4
Figura 1.6: Diagrama de bloques de la solución.....	5
Figura 2.1: Diagrama de dependencias de una red neuronal .....	8
Figura 2.2: Primera derivada de una función unidimensional.....	9
Figura 2.3: Máscara para la obtención de la primera derivada en la dimensión x.....	9
Figura 2.4: Máscara de Sobel para la detección del gradiente. A la derecha para la dimensión x, a la izquierda para y.....	10
Figura 2.5: Puntos etiquetados en un resistor.....	11
Figura 2.6: Diagrama de un punto de una imagen sin distorsión.....	15
Figura 2.7: Conjunto de muestras y su curva de mejor ajuste utilizando mínimos cuadrados.....	17
Figura 3.1: Diagrama de bloques de la solución.....	19
Figura 3.2: Desplazamiento del centro de la imagen para generar la distorsión radial....	21
Figura 3.3: Imagen del conjunto de entrenamiento para una red neuronal. Los píxeles en rojo son del tipo Borde, los verdes son Puede ser borde y los demás son No borde.....	21
Figura 3.4: Resultado del mapeo de Sammon. En la izquierda se utiliza la imagen original para construir la matriz A mientras que en la derecha se utiliza el gradiente de la imagen. ....	22
Figura 3.5: Kernel para detección de bordes horizontales.....	22
Figura 3.6: Búsqueda de máximos en las vecindades de otro máximo.....	24
Figura 3.7: Ejemplo de supresión no máxima del algoritmo de Canny.....	25
Figura 3.8: Supresión de máximos intermedios.....	25
Figura 3.9: Resultado de aplicar un filtro pasabajos a la figura 3.8.....	25
Figura 3.10: Mapeo de un cuadrilátero a un rectángulo.....	28
Figura 4.1: Líneas rectas con distorsión radial aplicada.....	29
Figura 4.2: Variación del ASM con las distintas dimensiones.....	30
Figura 4.3: Imagen de prueba con separación entre carriles.....	31
Figura 4.4: Imagen de prueba sin separación entre carriles.....	31
Figura 4.5: Izquierda: Probabilidad de ser borde para la imagen de prueba de la figura 4.3 Derecha: Detección de bordes utilizando la red neuronal.....	32
Figura 4.6: Detección de bordes utilizando el método del gradiente para la figura 4.3...	32
Figura 4.7: Izquierda: Probabilidad de ser borde para la imagen de prueba de la figura 4.4. Derecha: Detección de bordes utilizando la red neuronal.....	33
Figura 4.8: Detección de bordes utilizando el método del gradiente para la figura 4.4...	33
Figura 4.9: Columnas de prueba para la autocorrelación. De izquierda a derecha 1, 25 y 50.....	34
Figura 4.10: Medición del ancho de los carriles.....	34

Figura 4.11: Correlación de las columnas. De arriba hacia abajo corresponden a la número 1, 25 y 50.....	35
Figura 4.12: Columna 1 con 20% de ruido sumado. Marcado con un círculo el máximo más cercano al origen.....	36
Figura 4.13: Detección de carriles con el algoritmo implementado.....	37
Figura 4.14: Detección de líneas de puntos conectados con un 10% de ruido sumado a la imagen.....	39
Figura 4.15: Detección de carriles para una sección de la figura 4.4.....	39
Figura 4.16: Líneas detectadas para la medición de la desviación con 50 puntos.....	40
Figura 4.17: Desviación estándar de los carriles luego de la rectificación en función del número de puntos por forma.....	42
Figura 4.18: Imagen de prueba rectificada.....	43
Figura 4.19: Desviación estándar de los carriles post-corrección en función del porcentaje de varianza considerado por el ASM.....	44
Figura 4.20: Resultado de la detección de máximos con un 20% de ruido sumado a la figura.....	44
Figura 4.21: Desviación estándar post corrección en función del número de iteraciones.....	45
Figura 4.22: Desviación estándar de los carriles luego de la rectificación en función del tamaño de la forma.....	46
Figura 4.23: Desviación estándar luego de la rectificación en función del total de varianza considerada por el ASM.....	47
Figura 4.24: Desviación estándar post-rectificación en función del número de iteraciones.....	48
Figura 4.25: Imagen maxFinal para el gel sin separación entre carriles usando 50 puntos.....	49

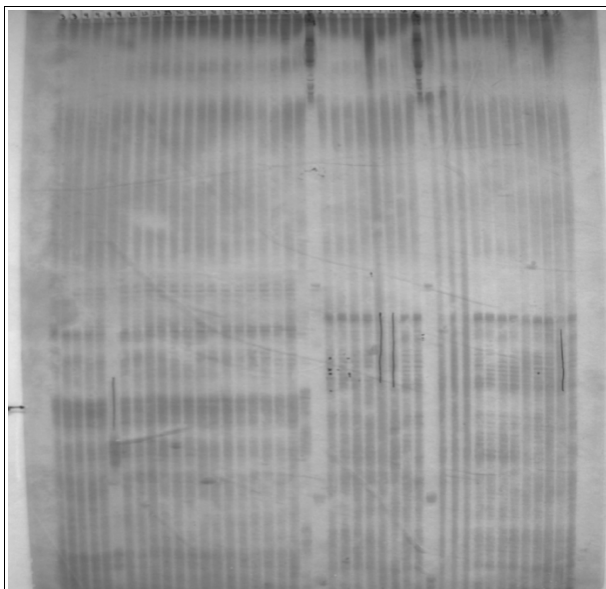
## Índice de tablas

Tabla 4.1: Desplazamiento del centro para las curvas de la figura 4.1.....	29
Tabla 4.2: Ancho de los carriles medido en función del ruido inducido para la figura 4.1 .....	35
Tabla 4.3: Ancho de los carriles medido en función del ruido inducido para la figura 4.4 .....	36
Tabla 4.4: Desviación entre la detección de carriles manual y computarizada.....	38
Tabla 4.5: Desviación en la detección de carriles en función del porcentaje del total de la varianza utilizada en el entrenamiento.....	38
Tabla 4.6: Desviación media en los carriles en función del ruido inducido en la imagen. Se realizan mediciones de la desviación en función de el tamaño de las formas y de la cantidad de dimensiones utilizando solamente la sección de la imagen mostrada en la figura 4.15.....	39
Tabla 4.7: Desviación entre la detección de carriles manual y computarizada.....	40
Tabla 4.8: Desviación en la detección de carriles en función del porcentaje del total de la varianza utilizada en el entrenamiento.....	40
Tabla 4.9: Desviación estándar inicial de los carriles.....	41
Tabla 4.10: Desviación estándar de los carriles luego de la rectificación en función del número de puntos por forma.....	41
Tabla 4.11: Parámetros de los carriles luego de la rectificación en función del porcentaje de la varianza total utilizado.....	43
Tabla 4.12: Desviación estándar post-corrección en función del porcentaje de ruido sumado a la imagen.....	44
Tabla 4.13: Desviación estándar post-corrección en función del número de iteraciones. .	45
Tabla 4.14: Desviación estándar inicial de los carriles de prueba.....	46
Tabla 4.15: Desviación estándar post-corrección en función del tamaño de la forma.....	46
Tabla 4.16: Desviación estándar luego de la rectificación en función del total de varianza considerado.....	47
Tabla 4.17: Desviación estándar post-rectificación en función del número de iteraciones .....	48

## Capítulo 1 . Introducción

### 1.1 Caracterización molecular utilizando geles de electroforesis

La caracterización molecular se refiere a la extracción de información relevante sobre el comportamiento de las moléculas que componen las células y las distintas interacciones que ellas tienen con otros sistemas. Esta información sirve como referencia para indicar similitudes y diferencias entre moléculas de individuos de una especie o de distintas especies.



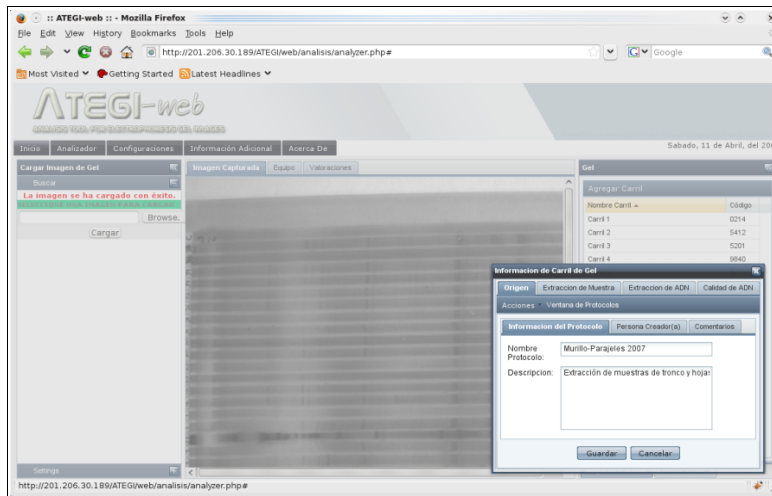
**Figura 1.1:** Fotografía de un gel de electroforesis.

Una técnica de caracterización molecular se basa en el análisis de geles de electroforesis. La electroforesis separa las moléculas sometiéndolas a un campo eléctrico y una temperatura constantes. Éste provoca que las partículas se muevan a través del gel o matriz, en donde las más pequeñas avanzan más que las grandes por su facilidad para atravesar los poros de la estructura. Terminado este proceso se dispone del gel en el cual está implícita la información de la caracterización, contenida en las estructuras que se forman en la misma matriz, llamadas *carriles*, a su vez conformados por una secuencia de *bandas* (figura 1.1). Las imágenes de los geles son capturadas para su respectivo análisis y almacenamiento de la información.

Las herramientas de análisis automático de la información son actualmente una necesidad en los laboratorios de biología molecular debido, principalmente, a la cantidad de datos que deben ser procesados. Las herramientas para el análisis de geles de electroforesis no son la excepción.

El software disponible para el análisis de la información y el procesamiento de las imágenes de los geles de electroforesis disponibles requieren licencias cuyo costo alcanza

decenas de miles de dólares. Es por esto que el Instituto Tecnológico de Costa Rica (TEC) inició en el 2008 el proyecto “Análisis por computador de imágenes de geles de electroforesis para la caracterización molecular de organismos”[3] el cual plantea la creación de una herramienta de software (figura 1.2) que satisfaga las necesidades de los investigadores en biología molecular. Entre las ventajas que ofrece tener un sistema propio en el TEC están la posibilidad de adaptarlo a la necesidad de distintos usuarios sin tener que optar por comprar distintas licencias, generar un software libre para uso académico y reducir la dependencia tecnológica de la institución, otras instituciones y el mismo país.

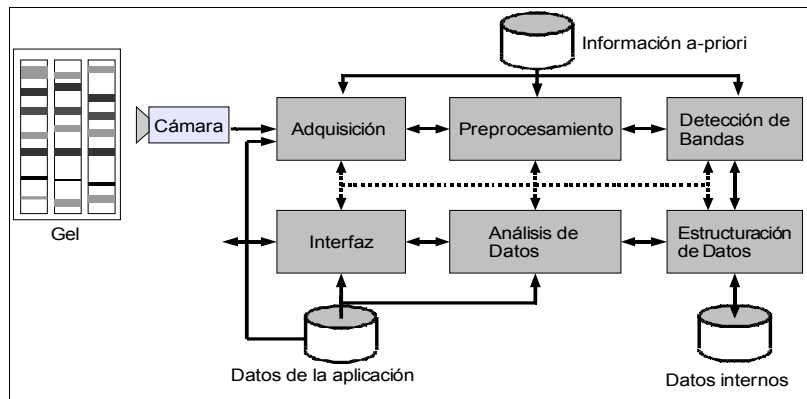


**Figura 1.2:** Herramienta desarrollada hasta el primer semestre del 2010 (tomado de [3])

La herramienta desarrollada hasta ahora ha logrado obtener un manejo básico de las bases de datos y del análisis de imágenes. Sin embargo aún queda camino por recorrer en la búsqueda de mecanismos robustos para el procesamiento y análisis de las imágenes.

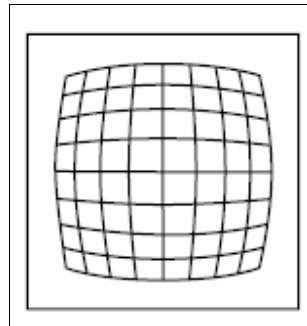
## **1.2 Distorsiones presentes en la imagen y su efecto en la detección de carriles**

En la figura 1.3 se ilustra el diagrama de bloques del desarrollo de la aplicación descrita para la captura y procesamiento de las imágenes de los geles de electroforesis, y su respectivo análisis.



**Figura 1.3:** Diagrama de bloques del sistema de la aplicación (tomado de [3]).

El problema a resolver se ubica en la etapa de preprocesamiento. En la captura de las imágenes de geles de electroforesis se presentan dos tipos de distorsiones implícitas. El primer tipo se debe al proceso de generación de los geles en sí ya que las condiciones de campo eléctrico y temperatura generalmente no se mantienen constantes: al darse variaciones en estos parámetros se presentan desviaciones en los carriles. El segundo tipo se debe al proceso de captura, entre las cuales se encuentran el ruido, incorrecto ajuste de la ganancia de la cámara y el bajo contraste; sin embargo, la principal manifestación de estas distorsiones son deformaciones en forma de barril en la imagen (por esta razón se le llama distorsión de barril, figura 1.4) debidas a el arreglo de lentes en el objetivo de la cámara. Esta se manifiesta como una contracción en las esquinas de la imagen. Dentro del segundo tipo también están las distorsiones que se introducen debido a que la cámara no tiene su eje óptico perfectamente alineados con la perpendicular al plano del gel (distorsiones perspectivas) y a rotaciones entre ambos elementos.



**Figura 1.4:** Distorsión de barril en una imagen

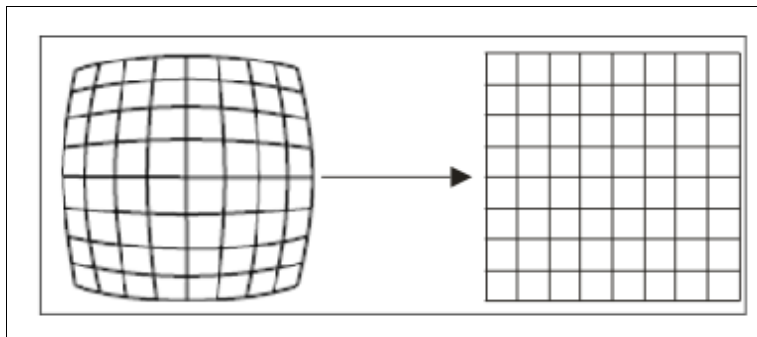
Con lo expuesto previamente es posible llegar a la siguiente síntesis del problema:

*”La detección de carriles en las imágenes de geles de electroforesis utilizados para la caracterización molecular de organismos se dificulta debido a las distorsiones ópticas introducidas, complicando así el análisis tanto automático como manual de la información que las imágenes contienen”*

### 1.3 Detección de carriles y corrección de las distorsiones

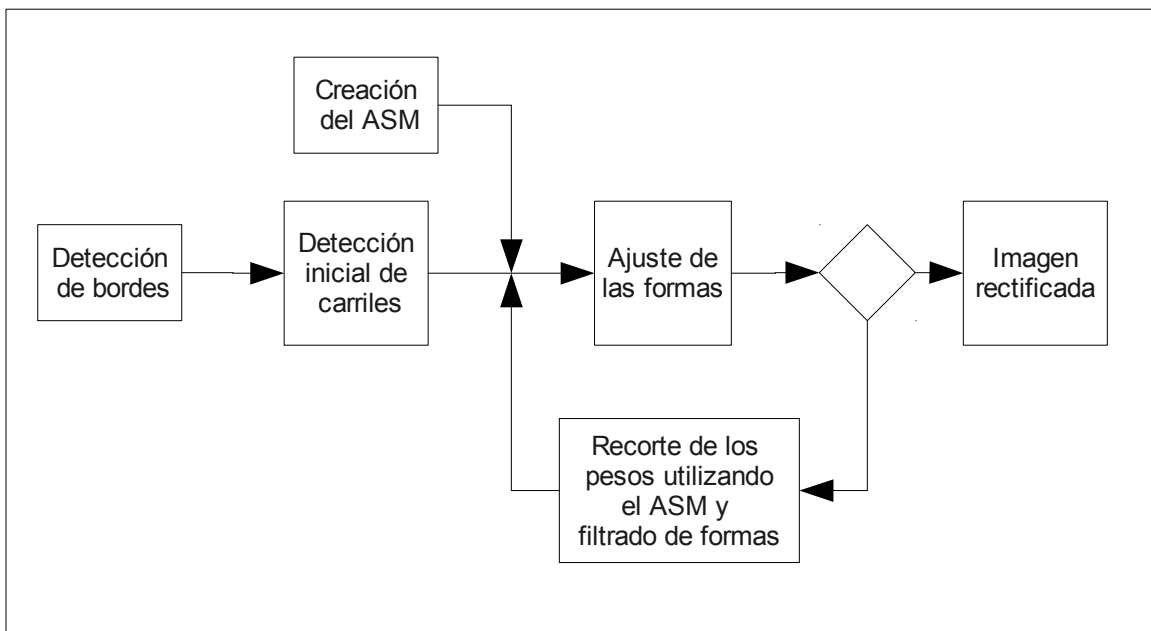
Cootes *et al.* [2] proponen modelar formas de objetos en una imagen basados en puntos que la describen. Estos puntos pueden pertenecer a contornos, características internas e incluso externas de los objetos. Mediante un grupo de imágenes de entrenamiento se puede describir estadísticamente como varían los modelos entre las diferentes muestras y así representar la forma del objeto, además de restringir los modos de variación del modelo a aquellos utilizados en su determinación. Con esto se puede comparar y ajustar la forma a objetos que no necesariamente son idénticos entre sí. El método descrito se llama *Modelos Activos de Forma (ASM: Active Shape Models)*.

Usando esta técnica es posible obtener un modelo estadístico de las distorsiones ópticas generadas en la captura de imágenes de un gel de electroforesis. Además se debe acudir a técnicas de procesamiento y análisis de imágenes para diseñar algoritmos que ajusten estos ASM a las formas de los carriles de la imagen bajo análisis para finalmente rectificarla (figura 1.5).



**Figura 1.5:** Proceso ideal de rectificación de una imagen distorsionada

El proceso de solución se resume en la figura 1.6. En síntesis se requiere una detección inicial de los carriles para modelarlos utilizando un conjunto de puntos (formas), para sí poder comenzar un proceso iterativo en el que las formas se ajustan y filtran hasta que se alcanza una mínima variación o un máximo de iteraciones. Hecho esto se tiene la ubicación de los carriles y se puede generar una imagen rectificada a partir de dicha ubicación.



**Figura 1.6:** Diagrama de bloques de la solución

#### **1.4 Objetivos y estructura del documento**

El principal objetivo del presente trabajo es detectar los carriles en imágenes de geles de electroforesis aún en la presencia de distorsiones ópticas. A partir de esta detección se tiene la información necesaria para generar imágenes en las que las distorsiones, si existieran, sean corregidas.

Para lograr lo anterior se requiere entrenar un ASM para las distorsiones ópticas que se generan en la captura de las imágenes de geles de electroforesis. Hecho esto, se hace necesario diseñar algoritmos para posicionar formas en los bordes de los carriles y ajustarlas tanto a la imagen bajo análisis como entre ellas, limitando las variaciones a aquellas permitidas por el ASM.

El siguiente capítulo presenta las bases teóricas necesarias para la implementación del algoritmo que se propone en el capítulo 3. Los resultados experimentales y su análisis se detallan en el capítulo 4. Finalmente en el capítulo 5 se plasman las conclusiones y recomendaciones del trabajo.

## Capítulo 2 . Marco Teórico

Se presentan en este capítulo los principales fundamentos teóricos necesarios para la implementación del algoritmo propuesto, así como una reseña de los trabajos anteriores relacionados con el tema. Para la detección de los carriles es necesaria una técnica de detección de bordes para la cual se presentan dos teorías: 1) utilizando redes neuronales 2) utilizando el gradiente. Se desarrolla el operador de autocorrelación como un método para obtener el período de las columnas del gradiente, el cual representa el ancho de los carriles. La optimización mediante mínimos cuadrados será utilizada para encontrar el polinomio que describe el comportamiento de los anchos de los carriles para distintas columnas del gradiente. También se expone el modelo matemático de distorsión óptica radial que será necesario para el entrenamiento del ASM. Finalmente se da una explicación de los filtrados lineales y no lineales que serán utilizados en distintas secciones de la solución.

### **2.1 Trabajos anteriores en detección de carriles y corrección de distorsión óptica radial**

García [1] en su trabajo corrige las distorsiones discutidas en la sección anterior mediante el uso de una rejilla de calibración, la cual consiste en un cuadrícula ideal con dimensiones conocidas. Este método requiere obtener una imagen de la rejilla cada vez que las condiciones de captura cambien (posición de la cámara, ángulo, objetivo utilizado, etc.) para poder ajustar el modelo. Por esta razón se debe buscar un nuevo enfoque que sea independiente de una imagen de calibración. No se encontró otra referencia que corrigiera las distorsiones ópticas y detectara los carriles simultáneamente.

Otros trabajos de detección de carriles, como el desarrollado por Bailey y Christie [10], se basan en que existe una separación entre los carriles, la cual no existe si los geles son de los del tipo *diente de tiburón*, en los que la separación es eliminada para reducir costos la generación de los geles. Además en ocasiones es necesaria la intervención del usuario para añadir o eliminar carriles, o en el peor de los casos como en el método propuesto por Glasbey *et al.* [11] se ubican todos los carriles manualmente.

En cuanto a la corrección de las distorsiones ópticas, algunos métodos como el propuesto por Das [7] se basan en la captura de imágenes patrón para capturar los parámetros de la distorsión y luego corregirla, lo cual presenta la misma problemática que el trabajo de García.

### **2.2 Mapeo o proyección de Sammon**

El mapeo de Sammon [12] es un algoritmo para el análisis de datos que se basa en la reducción de las dimensiones (normalmente a un número de dos o tres, debido a la percepción humana) de un grupo de vectores de  $n$  dimensiones donde se procura mantener las distancias entre los datos. Esto permite ver relaciones que existen entre los distintos puntos, como subconjuntos que comparten un espacio radial, elipsoidal o incluso lineal.

Se parte de un conjunto de  $N$  vectores en el espacio  $n$ -dimensional denotados  $\mathbf{X}_i$  ( $i = 1, 2, 3, \dots, N$ ) y sus equivalentes  $N$  vectores, denominados  $\mathbf{Y}_i$ , en el espacio reducido a  $d$ -dimensiones. Se determinan las distancias (cualquier distancia puede ser utilizada, pero normalmente se utiliza la distancia euclidiana) entre pares de vectores  $d_{ij}' = \text{dist}[\mathbf{X}_i, \mathbf{X}_j]$ . Luego se proyectan los vectores  $\mathbf{X}_i$  ortogonalmente en un espacio de  $d$  dimensiones para obtener la aproximación inicial del conjunto de salida ( $\mathbf{Y}_i$ ), y con esto determinar las distancias entre ellos  $d_{ij} = \text{dist}[\mathbf{Y}_i, \mathbf{Y}_j]$ . El objetivo es que las distancias medidas en el espacio de  $d$  dimensiones se apeguen de una manera óptima a las obtenidas en las  $n$  dimensiones mediante la reducción de la siguiente función de error:

$$E = \frac{1}{\sum_{i < j}^N d_{ij}'} \sum_{i < j}^N \frac{[d_{ij}' - d_{ij}]^2}{d_{ij}'} \quad (2.1)$$

En [12] se propone la optimización del error utilizando el método del descenso por la máxima pendiente (*Steepest Descent*), sin embargo distintos algoritmos pueden ser utilizados según sea la aplicación.

### 2.3 Detección de bordes

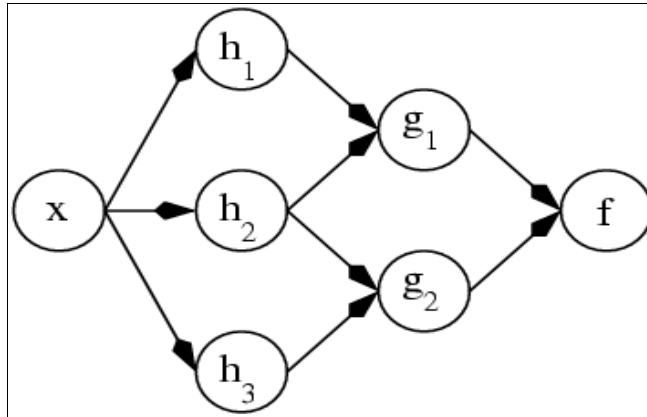
Para imágenes en escala de gris, un borde está definido por una rápida transición entre dos niveles de gris. En el caso de las imágenes de los geles de electroforesis se desea encontrar los bordes que separan los carriles uno del otro.

#### 2.3.1 Redes neuronales artificiales

Las redes neuronales artificiales [4] son modelos matemáticos que tratan de simular el comportamiento de una red neuronal biológica. Son sistemas adaptativos que cambian de acuerdo con la información que se les provee durante la fase de entrenamiento o "aprendizaje". Se utilizan para encontrar relaciones complejas entrada-salida en un sistema o para encontrar patrones. Estas redes se asemejan a las biológicas en que los diferentes nodos ("neuronas") trabajan en forma colectiva para realizar una función.

Una red neuronal se puede definir como una función  $f(x)$  que está compuesta por otras funciones  $g_i(x)$ , las cuales a su vez pueden estar compuestas por otra serie de funciones  $h(x)$  (figura 2.1). Cada una de estas sub-funciones recibe el nombre de *neurona*. Una de las funciones  $f(x)$  más usada es la suma ponderada, denotada como  $K * \sum_i w_i * g_i(x)$  donde  $K$  es conocida como la función de activación y  $w_i$  es el peso que se le da a cada función  $g(x)$ .

Las funciones dentro de una red neuronal se pueden representar como un diagrama de dependencias (figura 2.1), en donde se muestra la ruta que sigue la entrada hasta llegar a la salida.



**Figura 2.1:** Diagrama de dependencias de una red neuronal (An artificial neural network dependency graph, Christos Dimitrakakis 2005)

Sin embargo este diagrama de flujo puede verse modificado por el proceso de entrenamiento. En éste se elige, mediante una serie de observaciones, las funciones en los nodos y los pesos en las rutas que resuelven la tarea de forma óptima.

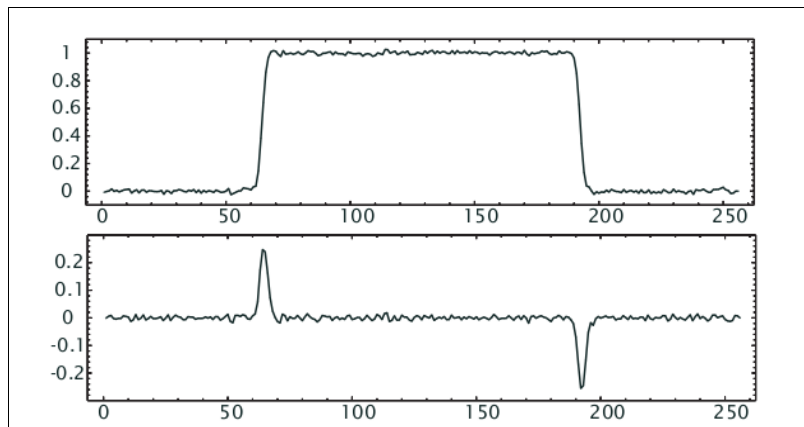
Una red neuronal puede ser entrenada para que el sistema clasifique los distintos píxeles de una imagen en subconjuntos. Para lo que concierne, se puede entrenar un red neuronal para que clasifique los píxeles que son borde y los que no lo son.

### 2.3.2 Gradiente

El gradiente de una función en dos dimensiones está dado por :

$$\nabla I(x, y) = \left[ \frac{\partial I(x, y)}{\partial x}, \frac{\partial I(x, y)}{\partial y} \right]^T \quad (2.2)$$

Este vector, al tratarse de la primera derivada, detecta las variaciones entre niveles de gris, apuntando por lo tanto en la dirección de la mayor variación. Un ejemplo del gradiente (primera derivada) en una dimensión se puede observar en la figura 2.2.



**Figura 2.2:** Primera derivada de una función unidimensional (tomado de [5])

Para una imagen digital, el proceso de obtener el gradiente se separa en dos partes, en la primera se obtiene la derivada en la dimensión  $x$  y en la segunda se obtiene para la dimensión  $y$ . Para aproximar la primera derivada se utiliza

$$\frac{\partial I(x, y)}{\partial x} \approx \frac{I(x + \Delta x, y) - I(x, y)}{\Delta x} \quad (2.3)$$

y si se hace  $\Delta x = 1$  se obtiene

$$\frac{\partial I(x, y)}{\partial x} \approx I(x + 1, y) - I(x, y) \quad (2.4)$$

El resultado anterior se puede implementar utilizando la convolución con una máscara unidimensional de la forma mostrada en la figura 2.3. Nótese que el resultado puede ser extrapolado para  $n$  dimensiones.

-1	1
----	---

**Figura 2.3:** Máscara para la obtención de la primera derivada en la dimensión  $x$ .

Debido a que la aproximación de (2.4) desplaza la imagen medio píxel y es sensible al ruido, se utilizan máscaras especializadas que corrigen estos errores en la detección del gradiente. Algunas de ellas son las de Prewitt, Ando y Sobel (figura 2.4).

-1	-2	-1	-1	0	1
0	0	0	-2	0	2
1	2	1	-1	0	1

**Figura 2.4:** Máscara de Sobel para la detección del gradiente. A la derecha para la dimensión x, a la izquierda para y (tomado de [6]).

## 2.4 Modelos Activos de Forma (Active Shape Models)

Un Modelo Activo de Forma (ASM) [2] es una técnica propuesta por Cootes *et al.* que se basa en la ubicación de puntos etiquetados de forma única que se distribuyen en distintas secciones de una figura a representar. Mediante la ubicación de estos puntos en distintas imágenes de un conjunto de entrenamiento y la obtención de estadísticas de la posición de los distintos puntos se deriva un Modelo de Distribución de Puntos (*Point Distribution Models, PDMs*). El PDM contiene el valor medio de las formas, así como parámetros que controlan las principales formas de variación de las mismas. La principal característica de esta técnica es la capacidad que tiene el modelo de deformarse pero solo siguiendo las formas típicas de variación encontradas en el conjunto de entrenamiento del modelo.

### 2.4.1 Etiquetado de los puntos

El primer paso para la obtención de un ASM es etiquetar puntos en el conjunto de entrenamiento en posiciones elegidas según la aplicación (figura 2.5). Las ubicaciones de dichos puntos se pueden clasificar en tres grupos :

- Puntos marcando partes de un objeto con significado particular para una aplicación tales como el centro o bordes muy marcados.
- Puntos que son significativos sin importar la aplicación tales como el punto más alto o más bajo de una figura o el extremo de una curvatura.
- Puntos interpolados entre los primeros dos tipos.

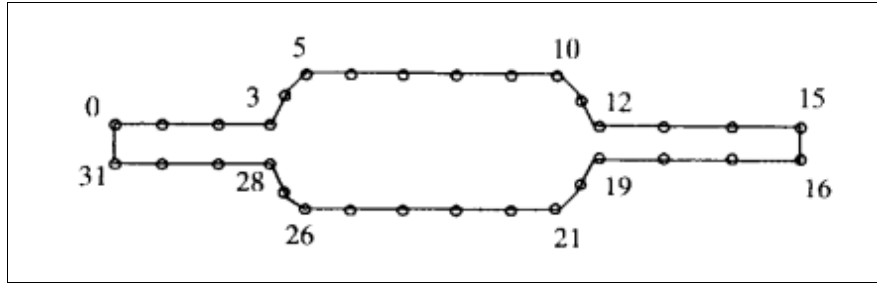


Figura 2.5: Puntos etiquetados en un resistor (tomado de [2]).

## 2.4.2 Alineación de formas del conjunto de entrenamiento

Debido a que esta técnica está basada en la obtención de estadísticas a partir de la distribución de cada punto en el conjunto de entrenamiento, se debe tener una manera de poder comparar puntos equivalentes en las distintas figuras utilizadas durante el proceso. Para esto se rotan, escalan y trasladan todas las figuras para que correspondan de la mayor forma posible.

Una forma descrita por  $N$  puntos (a lo largo de este documento entiéndase forma como este conjunto de  $N$  puntos) puede ser denotada vectorialmente como

$$\mathbf{x}_i = [x_{i0}, y_{i0}, x_{i1}, y_{i1}, \dots, x_{ik}, y_{ik}, \dots, x_{iN-1}, y_{iN-1}]^T \quad (2.5)$$

Dadas dos figuras  $\mathbf{x}_i$  y  $\mathbf{x}_j$ , estas se alinean minimizando la suma ponderada dada por

$$E_j = (\mathbf{x}_i - \mathbf{M}_{(s_j, \theta_j)}[\mathbf{x}_j] - \mathbf{t}_j)^T \mathbf{W} (\mathbf{x}_i - \mathbf{M}_{(s_j, \theta_j)}[\mathbf{x}_j] - \mathbf{t}_j) \quad (2.6)$$

- $\mathbf{M}(s_j, \theta_j)[\mathbf{x}]$  es una rotación y un escalamiento dados por

$$\mathbf{M}_{s_j, \theta_j}[\mathbf{x}_j] = \begin{bmatrix} s \cos \theta x_{jk} - s \sin \theta y_{jk} \\ s \sin \theta x_{jk} + s \cos \theta y_{jk} \end{bmatrix} \quad (2.7)$$

- $\mathbf{t}_j$  es una traslación para cada punto

$$\mathbf{t}_j = [t_{xj}, t_{yj}, \dots, t_{xj}, t_{yj}] \quad (2.8)$$

- $\mathbf{W}$  es una matriz diagonal de pesos, la cual sirve para dar mayor importancia a puntos más relevantes en las figuras.

### 2.4.3 Generación de estadísticas a partir del conjunto de entrenamiento alineado

Si se representan todas las formas en una matriz, tal que cada fila de la matriz contiene los puntos representados de la manera indicada en (2.5), se puede inferir que esta matriz tiene  $2n$  columnas, donde  $n$  es el número de puntos etiquetados. Considerando cada columna como una dimensión de un espacio  $2n$ -dimensional, se puede aplicar un método para disminuir este número de columnas dejando solamente las más significativas, es decir las que representan la mayor variación. Este método es llamado Análisis de Componentes Principales (*Principal Component Analysis, PCA*) [14]. El método PCA se basa en la suposición de que todas las formas representadas están distribuidos normalmente en el espacio de  $2n$  dimensiones, un elipsoide centrado en la media sería una superficie equiprobable en donde sus ejes principales son las dimensiones más significativas.

Partiendo de la forma media, calculada utilizando un conjunto de entrenamiento alineado mediante el método expuesto en la sección anterior

$$\bar{x} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N x_i \quad (2.9)$$

se puede obtener la diferencia entre una figura y la media utilizando

$$dx_i = x_i - \bar{x} \quad (2.10)$$

Haciendo uso de (2.10) se puede calcular la matriz de covarianza  $\mathbf{S}$  de tamaño  $2n \times 2n$  de la siguiente manera

$$\mathbf{S} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N dx_i dx_i^T \quad (2.11)$$

Los vectores propios  $p_k$  de esta matriz

$$\mathbf{S}p_k = \lambda_k p_k \quad k=1, 2, \dots, 2n \quad (2.12)$$

describen los principales ejes de variación del elipsoide que envuelve las formas. Los vectores que posean los valores propios más grandes son aquellos en que la variación es más significativa, pues se puede probar que los valores propios son iguales a la varianza que describe dicho eje [2]. Una manera de calcular el número de dimensiones  $t$  tal que  $t < 2n$  es utilizar el menor número de ejes de forma que se abarque una razón lo suficientemente grande de la varianza total dada por

$$\lambda_T = \sum_{k=1}^{2n} \lambda_k \quad (2.13)$$

El PDM está formado por la media de las formas (2.9), por los principales vectores propios  $p_k$  y por sus respectivos valores propios  $\lambda_k$ .

Finalmente las distintas formas que abarcan las primeras  $t$  dimensiones se pueden aproximar utilizando una combinación lineal de los primeros vectores propios

$$x \approx \bar{x} + Pb \quad (2.14)$$

en donde  $P = (p_1 \ p_2 \ p_3 \dots p_t)$  es la matriz de los primeros vectores propios y  $b = (b_1, b_2, \dots, b_t)^T$  es un vector de pesos. Así es posible pasar del espacio de la forma al espacio de pesos si se despeja  $b$  de la ecuación anterior:

$$b = P^{-1}(x - \bar{x}) = P^T(x - \bar{x}) \quad (2.15)$$

se cumple que  $P^{-1} = P^T$  pues la matriz es ortogonal y por lo tanto se cumple  $PP^T = PP^{-1} = I$ .

Este proceso de transformación al espacio de pesos puede ser hecho teniendo en cuenta un *vector de confiabilidad*  $r$ . Estos vectores contienen valores, normalmente entre cero y uno, que indican que tan fiable es un punto. Los valores de  $r$  pueden ser calculados de distintas formas según la aplicación. Así se reescribe (2.15) como

$$b = P^T((x - \bar{x}) * D(r)) \quad (2.16)$$

donde  $D(r)$  es una matriz con los valores de  $r$  en su diagonal.

#### 2.4.4 Recorte (trim) de los pesos de un modelo

Una vez que se transforma una forma al espacio de pesos se pueden obtener valores dentro del vector  $b$  que no están dentro del Dominio Permisible de Forma (*Allowable Shape Domain*), es decir, que su variación es mayor a la presentada por el conjunto de entrenamiento. Para solucionar esto se puede hacer un recorte de estos valores. El parámetro más común para hacer lo anterior es la desviación estándar, dado que el 99,7% de las formas del conjunto de entrenamiento están dentro del intervalo

$$-n\lambda_k < b_k < n\lambda_k \quad n=3 \quad (2.17)$$

Sin embargo puede elegirse  $n$  menor si se requiere forzar las formas a estar en un intervalo más cercano a la media o mayor si se desean permitir mayores variaciones.

#### 2.4.5 Filtrado en el espacio de pesos

En una imagen de geles de electroforesis distorsionada, la forma de los carriles cambia lentamente; en otras palabras, los cambios entre los valores de una dimensión de cada forma posicionada sobre un carril debe ser suave. Debido a esta razón se aplica un

filtro pasabajos en el espacio de pesos, es decir, filtrar cada dimensión  $t$  para así forzar las formas a cambiar lentamente.

Para este propósito, se utiliza una máscara gaussiana

$$M(j) = \frac{1}{\sigma \sqrt{2\pi}} e^{-\frac{j^2}{2\sigma^2}} \quad (2.18)$$

Si una máscara  $M(j)$  es de tamaño  $2i$  se debe cumplir que  $\sum_{j=-i}^i M(j) = 1$  para que los valores que resulten del proceso del filtrado no puedan superar el valor máximo dado para una dimensión.

Este filtrado se puede hacer considerando el *vector de confiabilidad*  $\mathbf{r}$ , con la salvedad de que en este caso se debe asignar una confiabilidad a cada forma y no a cada punto de ella. De ser así, la nueva condición que se debe cumplir para mantener los valores dentro del rango permitido está dada por

$$S(n) = \sum_{j=-i}^i a_n M(j) \mathbf{r}(n-j) = 1 \quad (2.19)$$

donde se agrega el término  $a_n$  como factor de escala, el cual se calcula despejando:

$$a_n = \frac{1}{\sum_{j=-i}^i M(j) \mathbf{r}(n-j)} \quad (2.20)$$

Teniendo en cuenta lo anterior, el resultado del filtrado  $\tilde{v}(n)$  para el  $n$ -ésimo valor de la dimensión  $t$   $v(n)$  de una forma es:

$$\tilde{v}(n) = a_n \sum_{j=-i}^i M(j) \mathbf{r}(n-j) v(n-j) \quad (2.21)$$

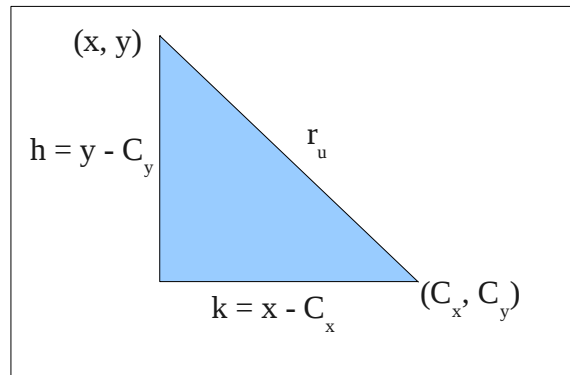
## 2.5 Distorsiones ópticas radiales

De acuerdo con Das [7] las distorsiones ópticas radiales generadas por el objetivo de la cámara se modelan utilizando un polinomio de potencias impares según la siguiente ecuación

$$r_d(r_u) = r_u + ar_u^3 + br_u^5 + \dots \quad (2.22)$$

en donde  $a$  y  $b$  son constantes,  $r_u$  es el radio del punto sin distorsionar y  $r_d$  es el nuevo radio con la distorsión. Además si  $a$  es positivo se genera una distorsión de barril (figura 1.4) mientras que si es negativo se genera el efecto opuesto llamado distorsión *pincushion* que es un estiramiento de las esquinas de la imagen.

Si se tiene una imagen y se le desea aplicar esta distorsión se estaría tratando de un mapeo de la forma  $(u, v) = T(x, y)$ . Asumiendo que el centro de la imagen está dado por  $(C_x, C_y)$  se debe partir de calcular el radio del punto  $(x, y)$  ilustrado en la figura 2.6.



**Figura 2.6:** Diagrama de un punto de una imagen sin distorsión

$$r_u = \sqrt{(x - C_x)^2 + (y - C_y)^2} = \sqrt{h^2 + k^2} \quad (2.23)$$

Para obtener las ecuaciones que mapean los puntos con distorsión se parte del hecho de que al ser el radio el único parámetro que varía, los triángulos que se forman antes y después de aplicar la distorsión son semejantes, por lo que aplicando el teorema de Tales se obtienen las siguientes relaciones:

$$\frac{r_d}{r_u} = \frac{u - C_x}{x - C_x} = \frac{v - C_y}{y - C_y} \quad (2.24)$$

Combinando (2.22) con (2.24) se obtienen las funciones de transformación:

$$\begin{aligned} u &= b(1 + ar_u^2 + br_u^4) + C_x \\ v &= h(1 + ar_u^2 + br_u^4) + C_y \end{aligned} \quad (2.25)$$

## 2.6 Correlación y autocorrelación

La correlación o correlación cruzada es un operador matemático utilizado como una medida de comparación entre dos señales. Dadas dos funciones reales  $f(x)$  y  $g(x)$  la correlación se define como:

$$\varphi_{fg}(x) = f(x) \star g(x) = \int_{-\infty}^{\infty} f(\tau) g(\tau+x) d\tau = f(x) * g(-x) \quad (2.26)$$

La función de correlación evaluada en cero es un parámetro para comparar dos funciones tal que:

$$\varphi_{fg}(0) = \begin{cases} 1 \rightarrow f(x) = g(x) \\ 0 \rightarrow f(x) \text{ y } g(x) \text{ son ortogonales} \\ -1 \rightarrow f(x) = -g(x) \end{cases} \quad (2.27)$$

Se define la autocorrelación como la correlación cruzada de una función consigo misma. Esta es utilizada para encontrar patrones dentro de una señal, generalmente ruidosa. Algunas propiedades de la autocorrelación son:

- Tiene simetría par.
- Tiene un máximo absoluto en el origen.
- A partir del origen tiene máximos locales en aquellos desplazamientos  $x$  iguales al período de la señal. Por lo tanto, la autocorrelación de una señal periódica es también periódica y con el mismo período [8].

## 2.7 Mínimos cuadrados

Los mínimos cuadrados [9] es una técnica numérica de optimización en la que dados un conjunto de  $m$  puntos  $(x_i, y_i)$  se busca una función  $f(x)$ , formada por una combinación lineal de  $n$  funciones  $f_j(x)$  linealmente independientes entre sí, de forma que se ajuste óptimamente a los pares (figura 2.7), esto es:

$$f(x) = \sum_{k=1}^n c_k f_k(x) \quad (2.28)$$

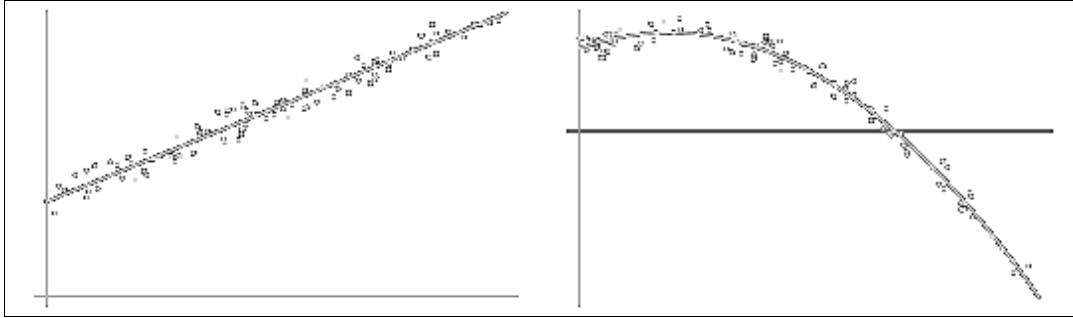
Lo que se busca son los coeficientes  $c_j$  que minimicen la suma de los errores cuadráticos dada por:

$$e_i = (y_i - f(x_i))^2$$

$$S = \sum_{i=1}^m e_i \quad (2.29)$$

Expresando el problema a resolver en forma matricial se obtiene:

$$\begin{bmatrix} f_1(x_1) & f_2(x_1) & \dots & f_n(x_1) \\ f_1(x_2) & f_2(x_2) & \dots & f_n(x_2) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ f_1(x_m) & f_2(x_m) & \dots & f_n(x_m) \end{bmatrix} \times \begin{bmatrix} c_1 \\ c_2 \\ \vdots \\ c_n \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} y_1 \\ y_2 \\ \vdots \\ y_n \end{bmatrix} \quad (2.30)$$



**Figura 2.7:** Conjunto de muestras y su curva de mejor ajuste utilizando mínimos cuadrados

## 2.8 Filtros lineales y no lineales

Una operador lineal  $T(x)$  es aquel que cumple con

$$T(\alpha f + \beta g) = \alpha T(f) + \beta T(g) \quad (2.31)$$

es decir, que el resultado de aplicar el operador a la suma de dos funciones multiplicadas por un escalar da el mismo resultado que aplicar el operador a las funciones, multiplicarlas por el escalar y luego sumarlas. De acuerdo con Gonzalez y Woods [6], este concepto se puede trasladar a las imágenes digitales si estas se representan como funciones de sus ejes  $I(x, y)$ . De la misma forma se puede utilizar el concepto de operadores no lineales, los cuales con aquellos que no cumplen con (2.31).

Específicamente, en los procesos de filtrados espaciales, aquellos lineales son los que se pueden modelar con la convolución. Es decir, sea un kernel lineal  $w$  de tamaño  $3 \times 3$  ubicado sobre un píxel con coordenadas  $(x, y)$  en una imagen  $I(x, y)$ , la respuesta del filtrado para ese píxel está dada por

$$R = w * I(x, y) \quad (2.32)$$

Algunos ejemplos de kernel lineales son los gaussianos y los derivativos.

Los filtros no lineales son aquellos en los que la respuesta siempre es función de los píxeles que cubre la máscara, pero no una combinación lineal de ellos. Algunos ejemplos son

los filtros de mediana o de máximo, los cuales asignan a cada píxel la mediana o el máximo, respectivamente, de la totalidad de los píxeles que cubre el kernel.

Estos filtros son utilizados en operaciones como detección de bordes o formas en imágenes.

### Capítulo 3 . Detección de carriles y corrección de las distorsiones

La figura 3.1 muestra los pasos de solución para la corrección de las distorsiones de la imagen. En esta sección se explicarán con detalle los algoritmos implementados para llevar a cabo cada uno de los bloques. La convención de ejes utilizada a lo largo de esta sección es la estándar para procesamiento de imágenes, en la que las filas corresponden al eje y y las columnas corresponden al eje x.

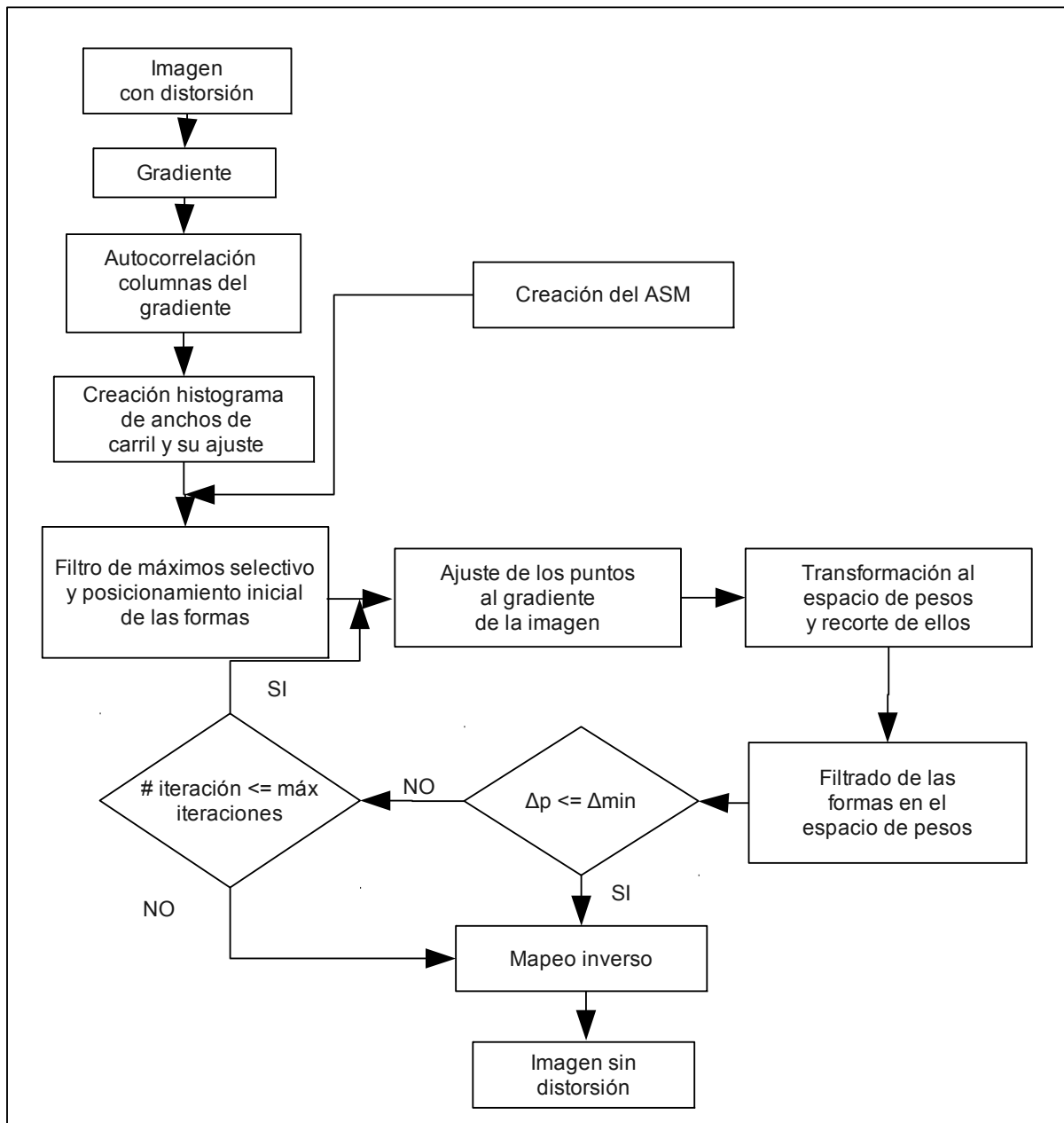


Figura 3.1: Diagrama de bloques de la solución

Además se utilizarán las siguientes abreviaciones:

- $(l_x, l_y)$ : Tamaño de la imagen procesada.
- $G(x, y)$ : Gradiente de la imagen procesada.
- $p$ : Número de puntos para la construcción del ASM (definido por el usuario).
- $S_p$ : Separación horizontal inicial entre los  $p$  puntos de una forma.
- $l_w$ : Distancia promedio entre carriles para la imagen en proceso.
- **C**: Columnas del gradiente separadas por una distancia  $S_p$ . La columna  $C_1$  es la correspondiente al primer punto y así sucesivamente.
- **W**: Vector que contiene los anchos de carril para cada elemento de **C**.

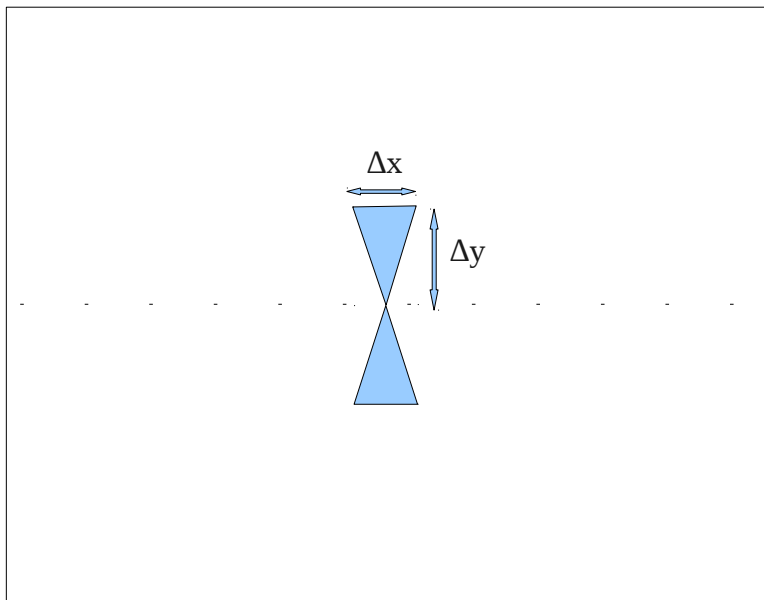
### 3.1 Creación del ASM

El método propuesto por Cootes *et.al.* [2] para la creación del modelo se basa en la ubicación manual de los puntos en el conjunto de entrenamiento; sin embargo, dado el costo en tiempo de esta labor y el hecho de que las distorsiones radiales están modeladas matemáticamente se crea el ASM de forma sintética, es decir, se basa en la aplicación de la distorsión radial a los puntos posicionados equidistantemente a lo largo del eje  $x$  de la imagen. Esto permite al usuario elegir el número de puntos que desea utilizar para el proceso. Así el ASM se crea de la siguiente forma:

1. Ubicación de la coordenada  $x$  para el número de puntos elegidos por el usuario. Estos son equidistantes uno del otro, a una distancia  $S_p$ :

$$x_i = (k + 0.5)S_p \quad k = 0, 1, \dots, p - 1 \quad (3.1)$$

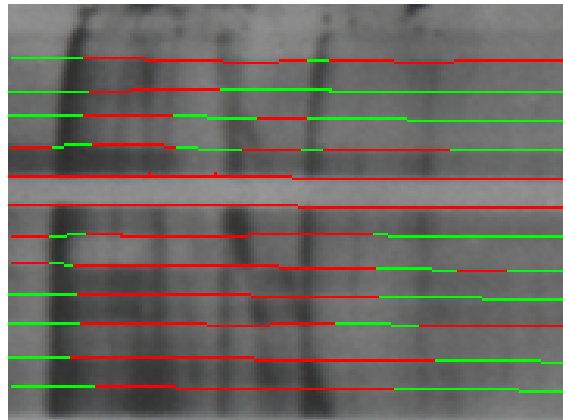
2. Aplicar el modelo de distorsión variando el centro de la imagen dentro del área indicada en la figura 3.2, en donde  $\Delta y$  es un parámetro elegido por el usuario y  $\Delta x$  es un porcentaje de  $\Delta y$ , elegido también por el usuario. Los parámetros  $a$  y  $d$  del modelo de distorsión (2.22) son elegidos empíricamente eligiendo aquellos que se adaptan a las distorsiones radiales presentes en las imágenes de geles de electroforesis.
3. Para cada variación del centro de la imagen considerar el conjunto de puntos distorsionados como una figura del conjunto de entrenamiento.



**Figura 3.2:** Desplazamiento del centro de la imagen para generar la distorsión radial

### 3.2 Redes neuronales para detección de bordes

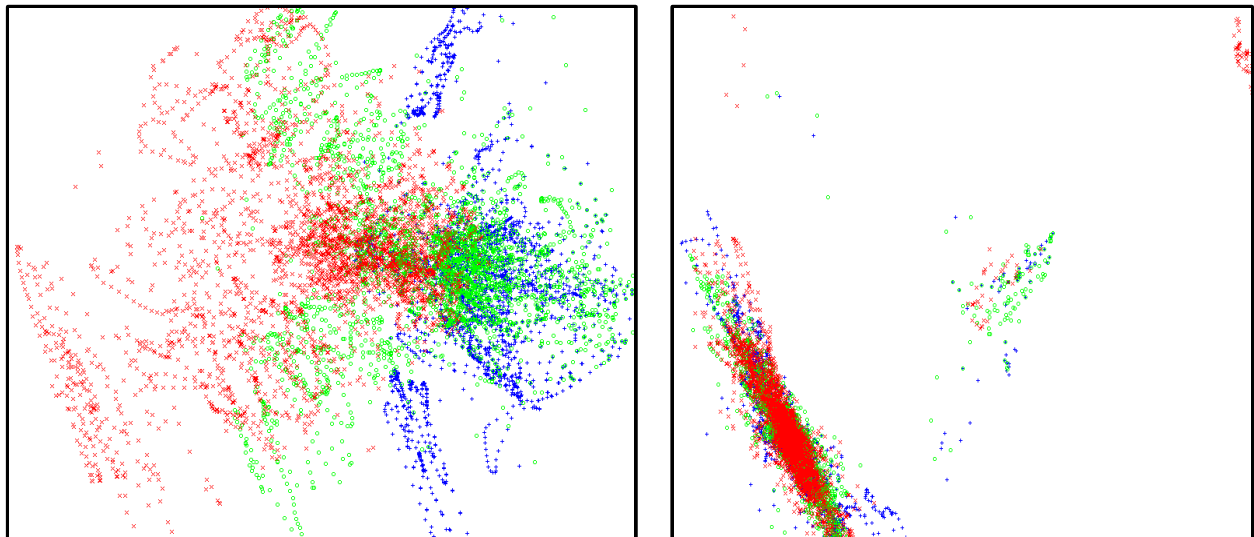
Las redes neuronales se pueden utilizar en la detección de bordes. Para esto se parte de un conjunto de entrenamiento donde los píxeles se clasifican en grupos o conjuntos (figura 3.3). Para este caso se clasifican en tres grupos: a) Borde b) No borde y c) Puede ser borde.



**Figura 3.3:** Imagen del conjunto de entrenamiento para una red neuronal. Los píxeles en rojo son del tipo *Borde*, los verdes son *Puede ser borde* y los demás son *No borde*.

Para el entrenamiento de la red neuronal se recorren las imágenes de entrenamiento con una máscara de tamaño  $m \times n$  y se almacena el píxel central junto con su vecindad ( $m \times n - 1$  píxeles) en una matriz **A**. En el mismo proceso se crea un vector de salidas que contiene

el tipo de píxel central que corresponde a esa entrada. Ambos se utilizan posteriormente para encontrar el conjunto de pesos que mejor ajustan las entradas con las salidas. Para elegir el tipo de red neuronal que más se adecúa a la aplicación se aplica el *mapeo de Sammon* a la matriz **A** ilustrado en la figura 3.4, donde se observa que existen conglomerados de puntos que pueden ser mejor representados por una función radial que en comparación con otros tipos como el *Perceptron Multi-Capa (MLP)*. Así se elige una red de función de base radial (*Radial Basis Function, RBF*).



**Figura 3.4:** Resultado del mapeo de Sammon. En la izquierda se utiliza la imagen original para construir la matriz **A** mientras que en la derecha se utiliza el gradiente de la imagen.

### 3.3 Gradiente para detección de bordes

Para la obtención del gradiente se parte de la imagen distorsionada en escala de grises. Debido a la aplicación, y asumiendo que los geles están alineados horizontalmente (carriles horizontales) la información relevante del gradiente es aquella a lo largo del eje *y*. Por lo tanto, se aplica el operador gradiente solamente en esta dimensión. Con el fin de intensificar la detección de bordes horizontales, se hace uso de un kernel con mayor número de columnas que de filas, como se muestra en la figura 3.5.

-1	-1	-1	-1	-1	-1
0	0	0	0	0	0
1	1	1	1	1	1

**Figura 3.5:** Kernel para detección de bordes horizontales.

Esta modificación en el número de columnas no es estática, si no que está dado por un porcentaje (definido por el usuario) de la separación entre los puntos  $S_p$ .

Los pasos para la obtención del gradiente son los siguientes:

1. Creación del kernel con el número de columnas deseadas.
2. Convolución del kernel con la imagen de entrada.
3. Si el gel tiene separación entre los carriles rectificar el gradiente. Esto es, para todo valor del gradiente  $G(x, y)$  aplicar:

$$\text{Si } G(x, y) < 0 \rightarrow G(x, y) = 0 \quad (3.2)$$

Esta operación se aplica ya que el gradiente en la dimensión  $y$  de la separación entre dos carriles tiene un perfil como el mostrado en la figura 2.2. Interesa conservar solamente uno de los bordes, por lo que al rectificar quedará solamente aquel en el que hay una transición entre carril (tonalidad oscura) y la separación (tonalidad clara).

4. Si el gel no tiene separación entre los carriles aplicar:

$$G(x, y) = |G(x, y)| \quad (3.3)$$

Para este caso un cambio de tonalidad indica que existe un cambio de carril y no una separación por lo que se justifica la aplicación del valor absoluto.

5. Normalizar el gradiente.

### 3.4 Autocorrelación de las columnas del gradiente y estimación del ancho de los carriles

El gradiente de la imagen será aproximadamente periódico en las áreas donde existen carriles, siendo el período el ancho de los carriles más la separación entre ellos, si ésta existe. Por lo tanto si se aplica la autocorrelación a una columna del gradiente se puede estimar el período de esa señal buscando el máximo más cercano al origen.

En este caso, se aplica la autocorrelación a  $p$ -columnas (**C**) para crear un histograma inicial de los anchos de carril. Con éste se obtiene el ancho promedio  $l_w$  presente en la imagen. Además se aplica un filtro gaussiano a la autocorrelación para filtrar ruido presente en la imagen.

También se crea un vector (**W**) que contiene los anchos de carril específicos para cada columna. Este se ajusta mediante un filtrado de mediana, partiendo de la premisa de que los cambios entre los anchos de los carriles no son pronunciados. Finalmente se calcula el polinomio de la forma  $f(x) = ax^3 + bx^2 + cx + d$  que mejor se ajusta a la curva que describen los anchos de los carriles utilizando el método de los mínimos cuadrados [9] y se vuelve a ajustar el vector.

### 3.5 Detección de carriles

De las imágenes de geles de electroforesis se tienen premisas útiles para el análisis:

- Los carriles tienen una orientación definida (horizontal específicamente para este trabajo).
- Los carriles están equidistantemente separados.
- En el gradiente  $G(x, y)$  no debe existir nada entre los carriles.
- Los máximos de  $G(x, y)$  corresponden a los bordes de los carriles.

Partiendo de esta información se puede eliminar el ruido existente entre los carriles una vez aplicado el gradiente mediante un algoritmo de filtrado selectivo de máximos, resultando en una matriz que contiene información de donde están ubicados los bordes de los carriles. Los pasos para este filtrado se detallan a continuación:

1. Aplicar a  $\mathbf{C}$  un filtro de máximos, utilizando para ello una máscara del tamaño indicado por el valor del vector  $\mathbf{W}$  correspondiente a cada columna  $C_i$ . Lo anterior seleccionará solo aquellos máximos que correspondan a bordes de carriles.
2. Con las columnas filtradas crear un nuevo histograma de anchos ( $\mathbf{H}$ ) de carril.
3. Utilizando  $\mathbf{H}$ , eliminar de las columnas filtradas aquellos máximos que no posean vecinos a una distancia cercana a  $l_w$ . Esto se logra centrándose en un máximo  $m_i$  y a partir de este buscar aquellos cercanos a una distancia  $l_w$  ( $m_{i-1}, m_{i+1}$ ) y ponderándolos con el valor de esta distancia en el histograma (figura 3.6). Si este valor es alto, el máximo  $m_i$  tiene validez.

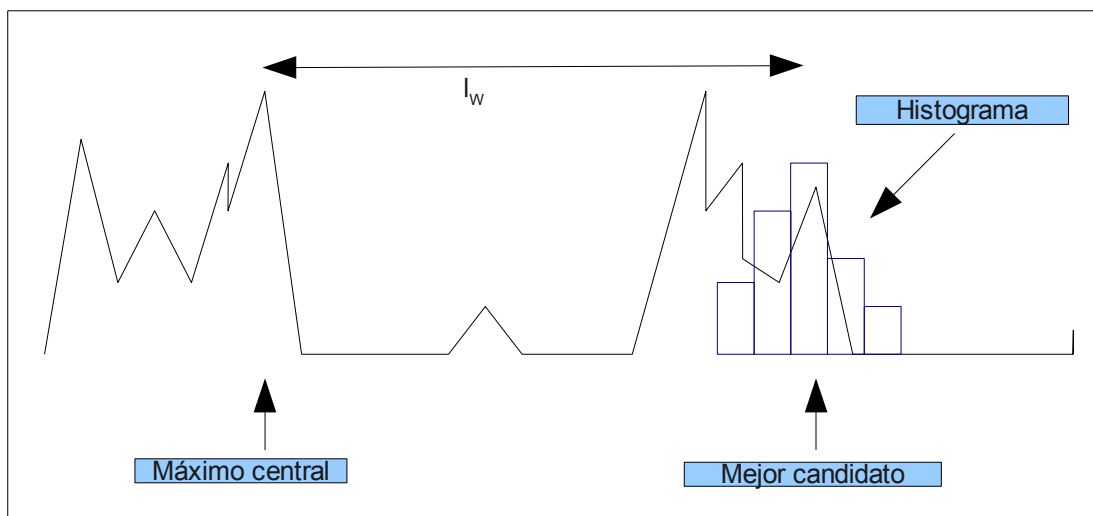
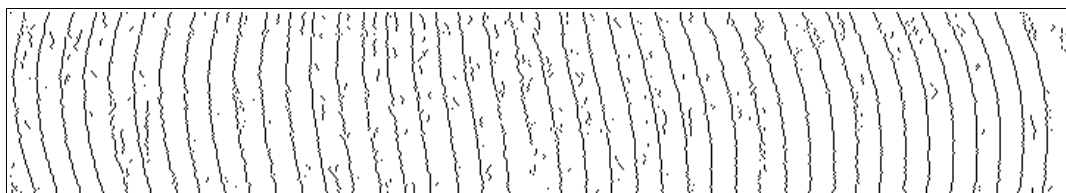


Figura 3.6: Búsqueda de máximos en las vecindades de otro máximo.

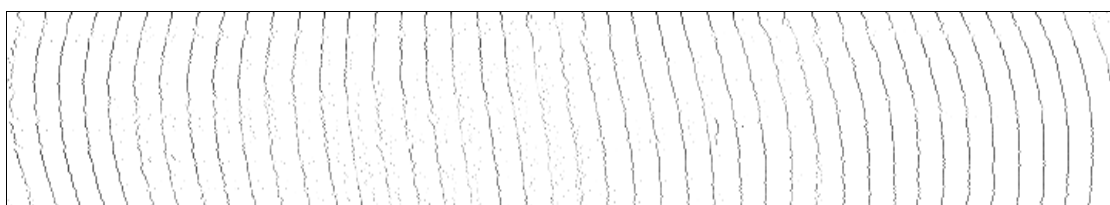
4. Hecho esto se procede a buscar los carriles más fuertes de la imagen. Estos serán el punto de partida para la detección de los demás. La técnica es utilizar la supresión no máxima del algoritmo de detección de bordes de Canny [13] en una imagen que esta formada a partir de  $\mathbf{C}$ , la cual sería de tamaño  $l_y \times p$ . De esta forma se pueden encontrar las líneas de puntos conectados. Aquellas con mayor número de puntos

serán los carriles más fuertes, si no se encuentran líneas con un mínimo de puntos conectados (definido por el usuario) el paso 5 no se ejecuta y la entrada del paso 6 será el resultado del paso 3.



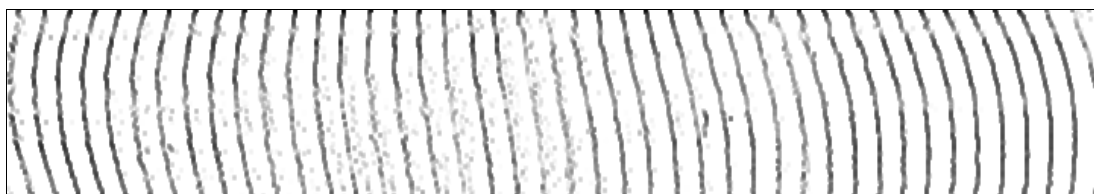
**Figura 3.7:** Ejemplo de supresión no máxima del algoritmo de Canny

5. Partiendo de los carriles más fuertes, se procede de la misma forma que en el paso 3. Se buscan los máximos en la vecindad que son mejores candidatos a ser un borde de un carril y suprimiendo los valores intermedios.



**Figura 3.8:** Supresión de máximos intermedios

6. Finalmente se aplica un filtro pasabajos a la imagen con el fin de rellenar espacios vacíos que serían potenciales candidatos a formar parte de un carril.



**Figura 3.9:** Resultado de aplicar un filtro pasabajos a la figura 3.8

Siguiendo los pasos anteriores se obtiene una matriz o imagen (*maxFinal*) a partir de las  $p$ -columnas extraídas del gradiente, que contiene información de la ubicación de los carriles, la cual será el punto de partida para el posicionamiento inicial de las formas sobre la imagen.

### 3.6 Cálculo de la confiabilidad de una forma

Como se acotó en el capítulo 2, las formas pueden tener una confiabilidad que indica la validez que tiene la forma respecto a las otras. Para calcularla se evalúan todos sus puntos en *maxFinal* y se calcula el promedio. Para aquellos puntos que no correspondan exactamente a una fila de *maxFinal* se procede a hacer una interpolación lineal.

Sea una forma  $s$  conformada por un conjunto de puntos de la forma  $(x_z, y_z)$ , la fila correspondiente para cada punto se obtiene como:

$$k_z = \frac{x_z}{S_p} - 0.5 \quad (3.4)$$

Así, siendo  $d_z$  el fraccionario de  $k_z$  y considerando  $maxFinal$  una función  $f(i, j)$ , la confiabilidad de una forma está dada por la siguiente ecuación:

$$R_s = \sum_{z=0}^{p-1} f(y_z, k_z)(1-d_z) + f(y_z, k_z+1)d_z \quad (3.5)$$

### 3.7 Posicionamiento inicial de las formas

Las formas que se ubicarán sobre la imagen consisten de  $p$ -puntos que se encuentran separados por una distancia  $S_p$ , de forma que exista correspondencia con el entrenamiento del ASM. Estas representan tanto los bordes de los carriles como la distorsión que estos poseen. Se plantea una metodología similar a la de la sección anterior para ubicarlas.

1. Tomando una fila de  $maxFinal$  buscar el punto correspondiente al carril más fuerte encontrado en el punto 4 de la sección anterior y posicionar el primer punto de una forma,  $P_{10}$ .
2. Realizar una búsqueda hacia la izquierda del máximo más cercano a la distancia  $l$  y ubicar el primer punto de otra nueva forma,  $P_{20}$ .
3. Partiendo de  $P_{20}$  repetir el paso 2 para ubicar  $P_{30}$  y así sucesivamente hasta llegar al final de la imagen y ubicar  $P_{k0}$ .
4. Posicionándose de nuevo en el punto  $P_{10}$  realizar la búsqueda hacia la derecha para encontrar  $P_{(k+1)0}$  y así sucesivamente hasta llegar al final de la imagen y posicionar el punto  $P_{n0}$ .
5. Repetir los pasos 1 al 4 hasta completar las filas, en otras palabras, llegar a los puntos  $P_{kp}$  y  $P_{np}$ .
6. Calcular la confiabilidad de todas las formas y eliminar aquellas poco confiables, es decir, las que se ubicaron en secciones de la imagen donde no existen carriles.

### 3.8 Proceso iterativo de ajuste

Debido a que el posicionamiento inicial de las formas generalmente presenta imperfecciones, se requiere de un paso final previo a la rectificación de la imagen. Este se trata de un proceso iterativo en el cual las formas se van ajustando gradualmente a los bordes de los carriles, corrigiendo la posición de aquellos puntos que no se ajustan a las distorsiones para las cuales fue entrenado el ASM. El procedimiento termina cuando se alcanza una mínima variación entre iteraciones o cuando se alcanza un máximo número de iteraciones. Ambas condiciones son definidas por el usuario.

### 3.8.1 Ajuste de las formas a los bordes de los carriles

Este proceso consiste en el ajuste de los puntos que conforman una forma a la imagen *maxFinal*. Para cada punto  $(x, y)$  se calcula la fila  $k$  correspondiente de *maxFinal*, utilizando (3.4). Luego se realiza una búsqueda desde  $y - l/2$  hasta  $y + l/2$  en búsqueda del máximo más cercano ubicado en la posición  $j$  de la fila  $k$  y se hace  $y=j$ .

### 3.8.2 Recorte de los pesos

Una vez ajustadas las formas se convierten al espacio de pesos según (2.15). Algunos de estos pesos pueden estar fuera de los límites permitidos por lo que se hace un recorte siguiendo (2.17) en donde el parámetro  $n$  puede ser definido por el usuario, aunque usualmente se establece  $n=3$ .

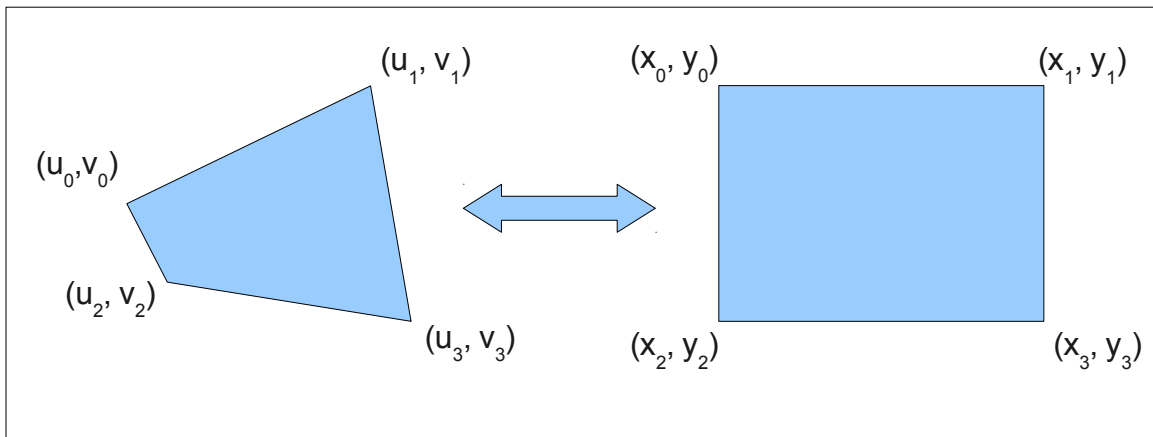
Cabe destacar que este proceso puede desplazar los puntos que conforman una forma tanto en la coordenada  $x$  como en  $y$ , además que requiere que las formas estén previamente alineadas con la media.

### 3.8.3 Filtrado en el espacio de pesos

Como se explicó en el capítulo 3 la naturaleza de las distorsiones ópticas provoca que las formas varíen lentamente. Sabiendo esto se aplica un filtrado a cada dimensión utilizando una máscara gaussiana. También se hace uso de las confiabilidades calculadas para cada forma para evitar que existan formas que cambien drásticamente.

## 3.9 Rectificación de la imagen

Una vez ajustadas las formas a los bordes de los carriles se tiene una cuadrícula no uniforme formada por puntos consecutivos. Por ejemplo, sea una forma  $s_i(n)$  y otra  $s_{i+1}(n)$  donde  $n$  representa los puntos, un elemento de la cuadrícula tendría como esquinas  $(s_i(1), s_i(2), s_{i+1}(1), s_{i+1}(2))$ . A partir de esta cuadrícula se debe crear una imagen nueva que convierta los cuadriláteros formados a rectángulos de largo  $S_p$  y ancho  $l$  (figura 3.10).



**Figura 3.10:** Mapeo de un cuadrilátero a un rectángulo.

Se trata de un mapeo bilineal de la forma

$$\begin{bmatrix} x_0 & y_0 \\ x_1 & y_1 \\ x_2 & y_2 \\ x_3 & y_3 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & u_0 & v_0 & u_0 \times v_0 \\ 1 & u_1 & v_1 & u_1 \times v_1 \\ 1 & u_2 & v_2 & u_2 \times v_2 \\ 1 & u_3 & v_3 & u_3 \times v_3 \end{bmatrix} \times \begin{bmatrix} a_0 & b_0 \\ a_1 & b_1 \\ a_2 & b_2 \\ a_3 & b_3 \end{bmatrix} \quad (3.6)$$

O en forma abreviada

$$[x, y] = [1, u, v, uv][a, b] \quad (3.7)$$

Las esquinas del cuadrilátero de entrada y del rectángulo de salida son conocidas, por lo que solo es necesario encontrar los parámetros del mapeo, por lo que despejando se obtiene:

$$[a, b] = [1, u, v, uv]^{-1}[x, y] \quad (3.8)$$

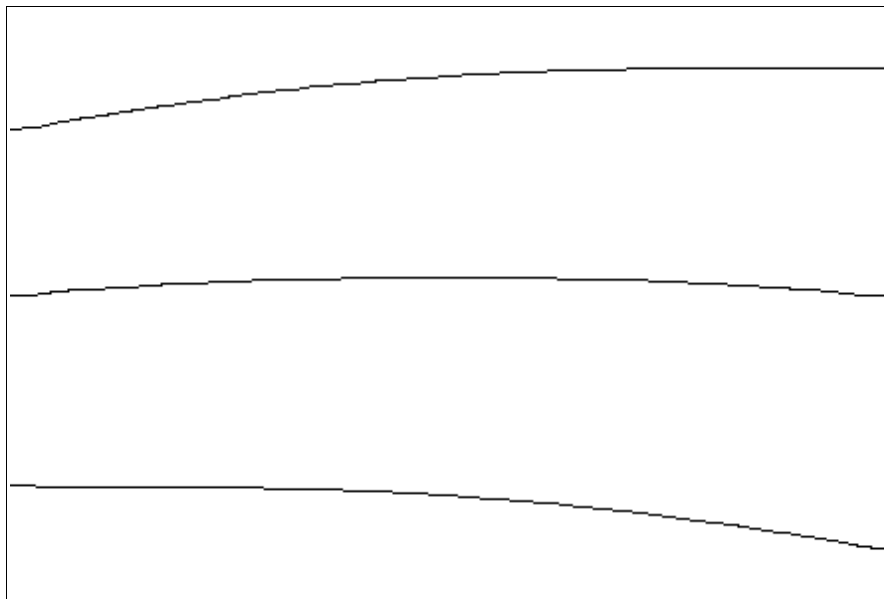
Conociendo estos parámetros se puede averiguar cualquier coordenada intermedia utilizando:

$$\begin{aligned} x(u, v) &= a_0 + a_1 u + a_2 v + a_3 uv \\ y(u, v) &= b_0 + b_1 u + b_2 v + b_3 uv \end{aligned} \quad (3.9)$$

## Capítulo 4 .Resultados experimentales

### 4.1 Creación del ASM

En la figura 4.1 se muestran algunas de las formas consideradas para el entrenamiento del ASM, estas se forman a partir de líneas rectas que se les aplica el modelo de distorsión radial. La tabla 4.1 muestra los desplazamientos del centro que corresponden a la distorsión obtenida para cada una de dichas formas. Los parámetros  $a$  y  $b$  de (2.22) fueron elegidos empíricamente observando que las curvas formadas se ajusten a las presentadas por las imágenes de geles, sus valores son  $4 \times 10^{-8}$  y  $3 \times 10^{-13}$  respectivamente.



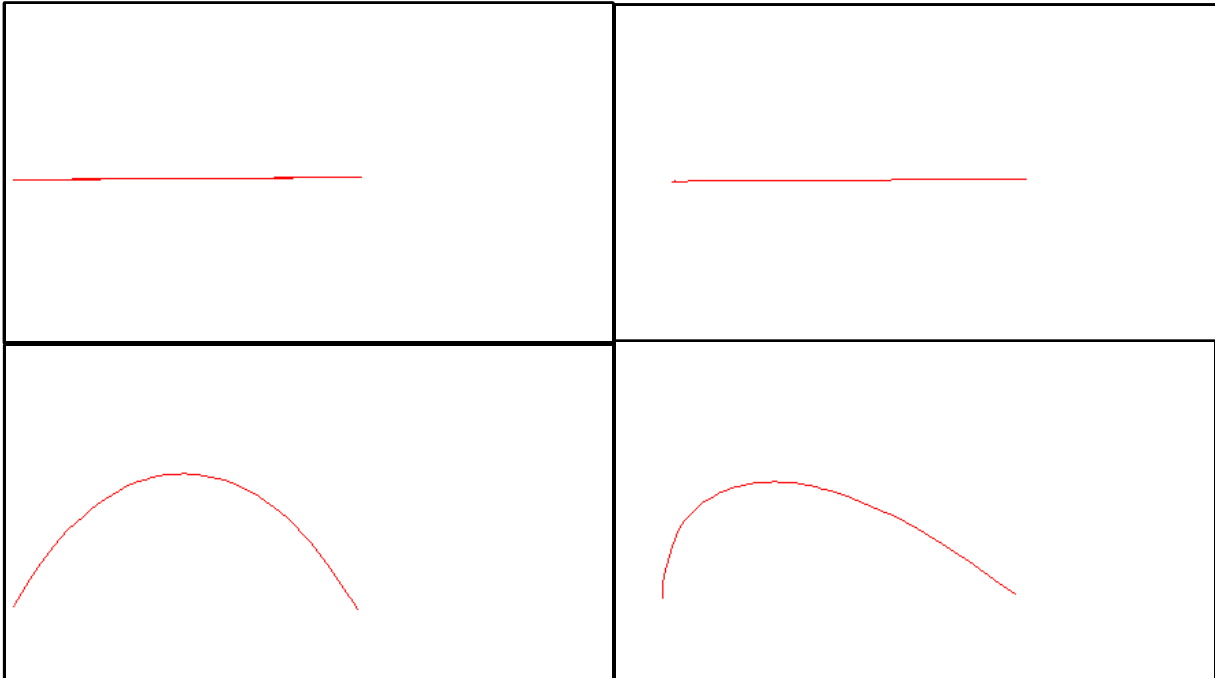
**Figura 4.1:** Líneas rectas con distorsión radial aplicada

**Tabla 4.1:** Desplazamiento del centro para las curvas de la figura 4.1

Curva	Desplazamiento en x (píxeles)	Desplazamiento en y (píxeles)
Superior	400	400
Central	0	400
Inferior	-400	400

En la figura 4.2 se presentan los principales modos de variación para un ASM entrenado utilizando 50 puntos por forma y una variación del centro de la imagen en la fase de entrenamiento de 400 píxeles para ambos ejes. Además se elige el número de dimensiones utilizadas de forma que se abarque un 95% de la varianza total del conjunto de entrenamiento, lo cual se logra con dos de las cien dimensiones iniciales.

En la esquina superior izquierda se muestra la forma media del conjunto de entrenamiento; a su derecha se observa la variación en la primera dimensión (movimiento horizontal) dándole un valor al peso correspondiente  $b_0$  de -2,03. En la esquina inferior izquierda se varía la segunda dimensión siendo  $b_1 = 4,02$ . Finalmente en la sección inferior derecha se varían la primera ( $b_0 = -1,93$ ) y segunda dimensión ( $b_1 = 3,74$ )



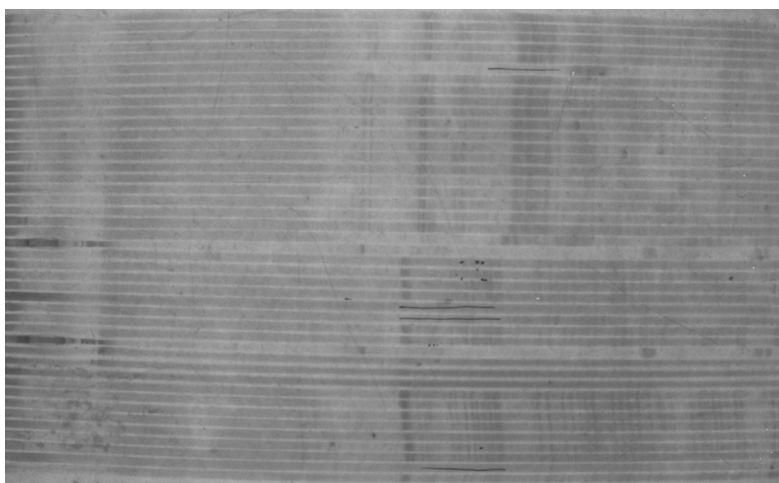
**Figura 4.2:** Variación del ASM con las distintas dimensiones.

## 4.2 Detección de bordes

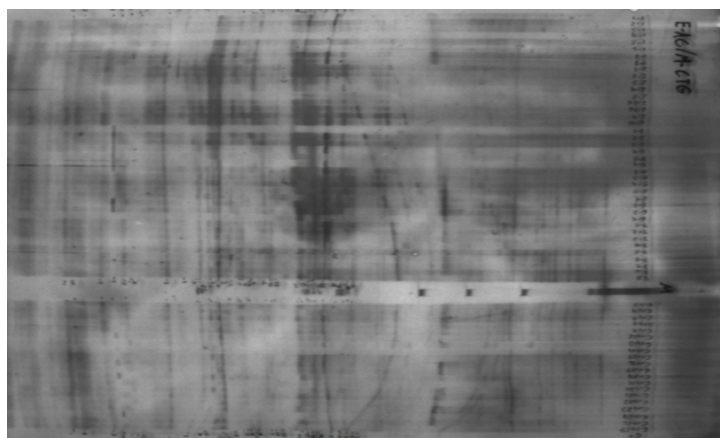
En esta sección se presentan de una forma cualitativa los resultados de detección de bordes utilizando las redes neuronales y el gradiente de la imagen para geles con y sin separación entre carriles.

Se entrenó una red de Función de Base Radial utilizando imágenes de entrenamiento similares a la mostrada en la figura 3.3.

Como imagen con separación entre carriles se utiliza la imagen en la figura 4.3, mientras que para imágenes sin separación entre carriles se utilizó aquella en la figura 4.4.



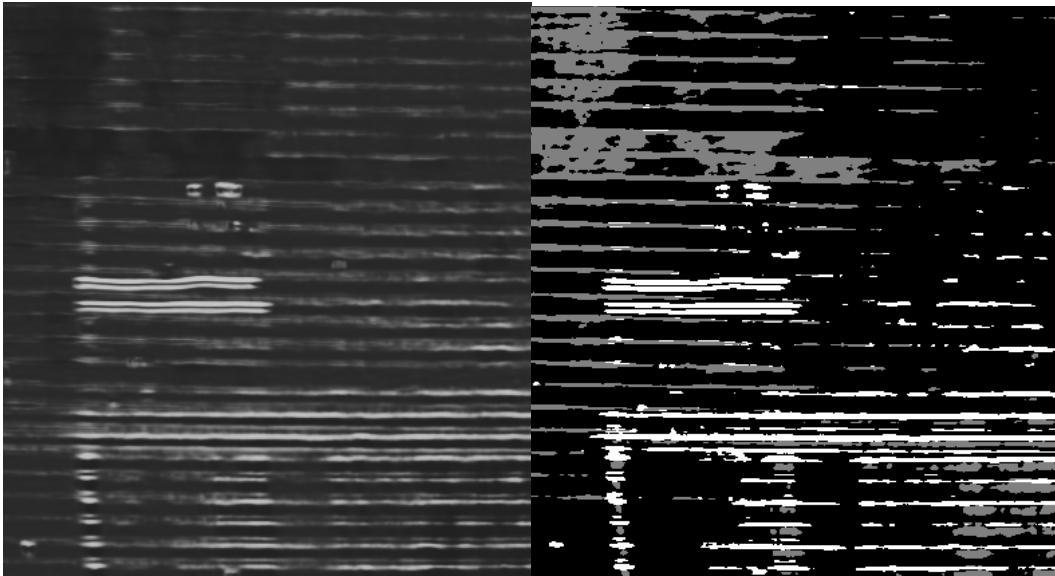
**Figura 4.3:** Imagen de prueba con separación entre carriles



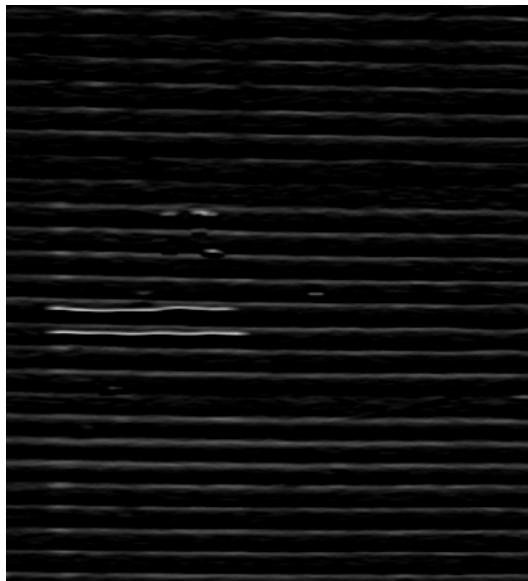
**Figura 4.4:** Imagen de prueba sin separación entre carriles

Se entrena una red neuronal con una máscara de  $11 \times 7$  y se muestran dos tipos imágenes: 1) La posibilidad de que un píxel sea borde 2) La detección de bordes. Además se presentan los resultados utilizando el método del gradiente que se propuso en el capítulo 3.

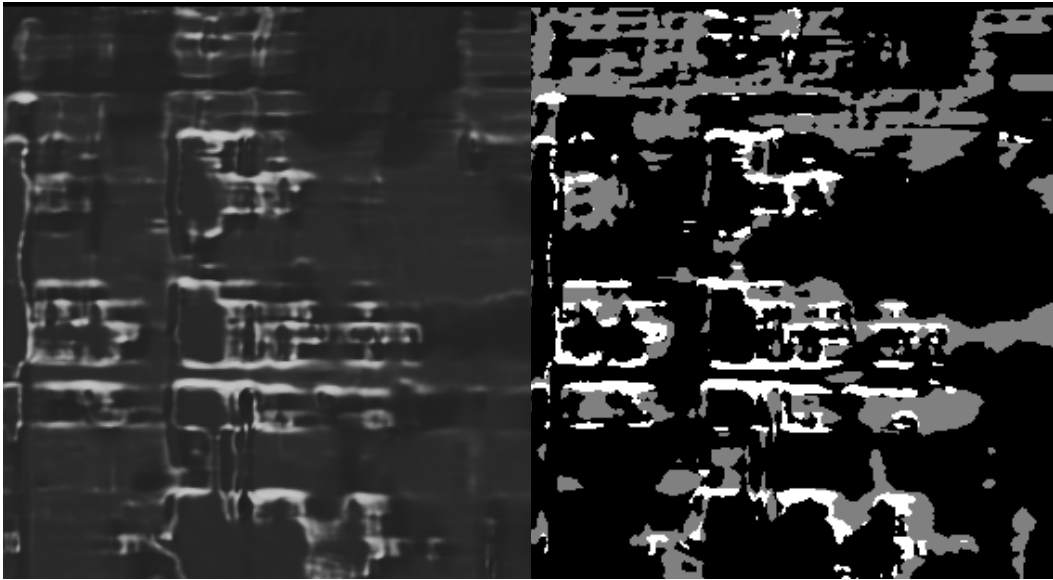
Las imágenes que presentan la posibilidad de que un píxel sea borde se representan en una escala de grises, en la que un valor más claro significa una posibilidad más alta, por lo tanto un valor oscuro una posibilidad baja. En lo que a las imágenes de detección de bordes con red neuronal respecta, un valor negro significa que el píxel no es borde, una tonalidad gris es que podría ser borde y uno blanco representa un borde.



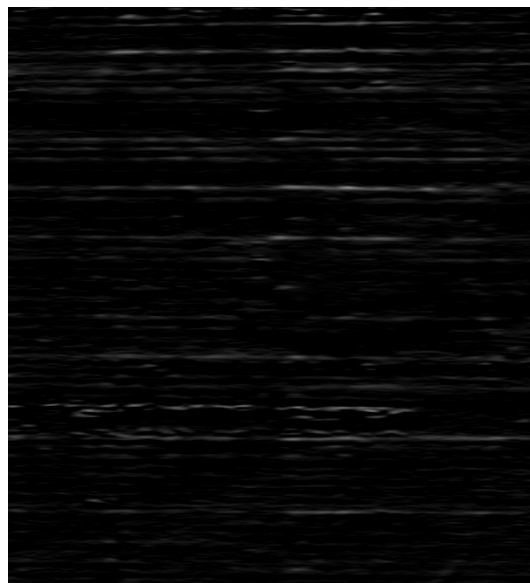
**Figura 4.5:** Izquierda: Probabilidad de ser borde para la imagen de prueba de la figura 4.3 Derecha: Detección de bordes utilizando la red neuronal.



**Figura 4.6:** Detección de bordes utilizando el método del gradiente para la figura 4.3



**Figura 4.7:** Izquierda: Probabilidad de ser borde para la imagen de prueba de la figura 4.4. Derecha: Detección de bordes utilizando la red neuronal

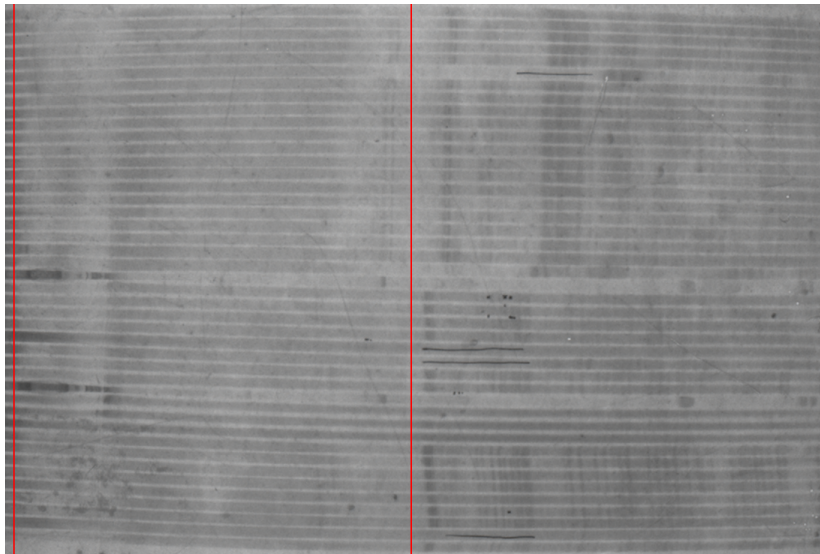


**Figura 4.8:** Detección de bordes utilizando el método del gradiente para la figura 4.4

Con una inspección visual se observa que el método del gradiente proporciona información sobre la posición de los carriles continua en comparación con la red neuronal, es decir, los carriles no se ven interrumpidos, lo cual es la clave para el posicionamiento inicial de las formas y su ajuste.

### 4.3 Autocorrelación de las columnas del gradiente

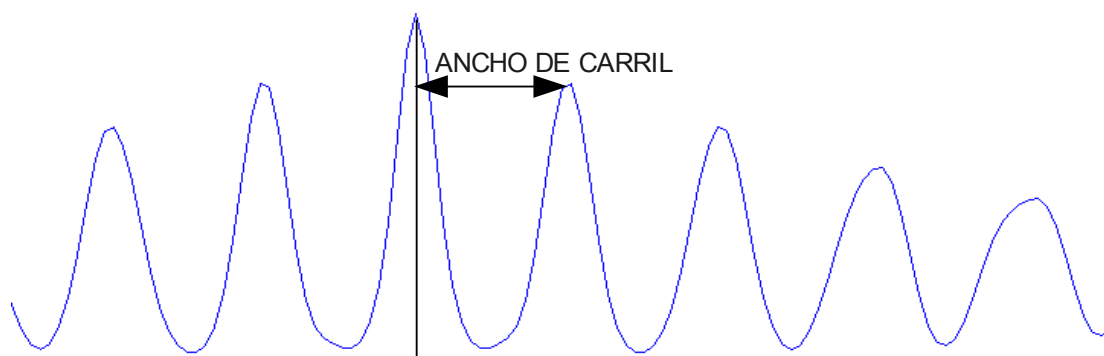
Utilizando 50 puntos para la creación del ASM, se observa el comportamiento de la autocorrelación de las columnas número 1, 25 y 50 (figura 4.9) ante la suma de ruido blanco gaussiano a la totalidad la imagen (adicional al presente por naturaleza). Con este ruido se modelan indirectamente posibles degradaciones en la calidad de la imagen como reducción de contraste, presencia de ruido del CCD o difuminación de los carriles.



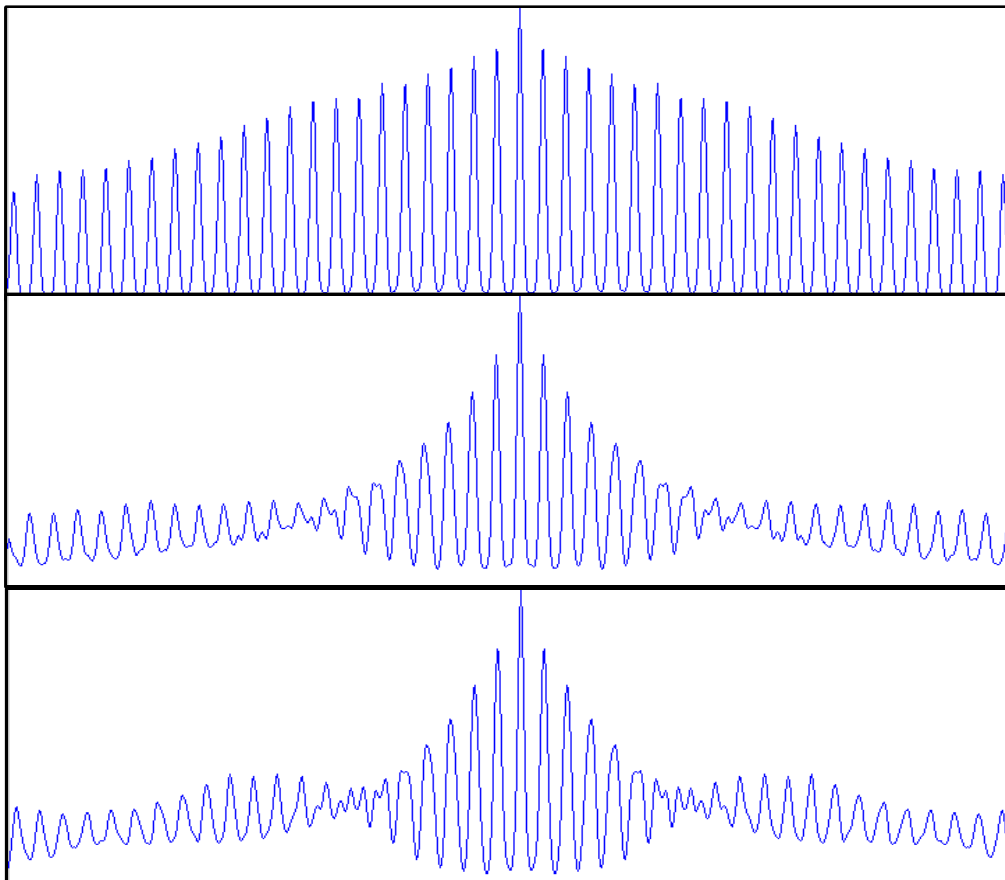
**Figura 4.9:** Columnas de prueba para la autocorrelación. De izquierda a derecha 1, 25 y 50

Modificando la varianza de la distribución de este ruido se logra aumentar o disminuir la amplitud que se suma. Representando esta amplitud como un porcentaje del máximo valor de la imagen se determina el ancho de los carriles de cada columna mediante la búsqueda del primer máximo a partir del origen (figura 4.10). El filtro aplicado al resultado de la autocorrelación (ver sección 3.4) es de 7 píxeles de ancho y tiene una varianza de 1,5.

En la figura 4.11 se presenta la autocorrelación de dichas columnas sin ruido inducido para el gel con separación entre carriles.



**Figura 4.10:** Medición del ancho de los carriles



**Figura 4.11:** Correlación de las columnas. De arriba hacia abajo corresponden a la número 1, 25 y 50

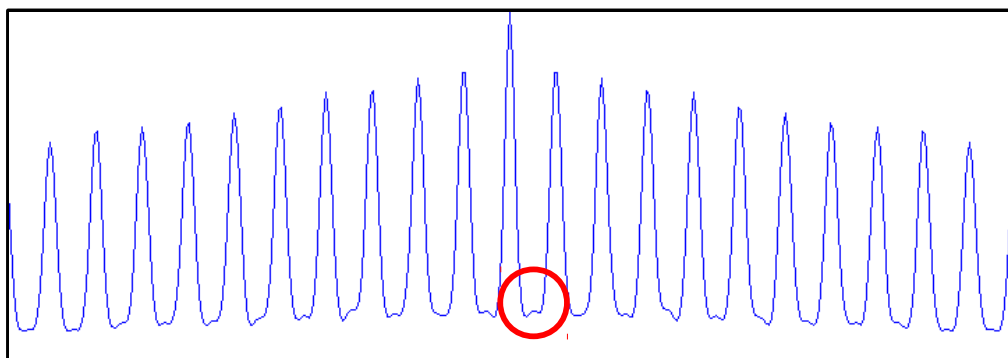
**Tabla 4.2:** Ancho de los carriles medido en función del ruido inducido para la figura 4.1

Columna	Porcentaje de ruido (%)	Ancho de los carriles (píxeles)	Error (%)
Columna 1	0	16	0
	10	16	0
	15	17	6,2
	20	8	50
Columna 25	0	16	0
	10	17	6,2
	15	16	0
	20	17	6,2
Columna 50	0	17	6,2
	10	16	0
	15	16	0
	20	16	0

**Tabla 4.3:** Ancho de los carriles medido en función del ruido inducido para la figura 4.4

Columna	Porcentaje de ruido (%)	Ancho de los carriles (píxeles)	Error (%)
Columna 1	0	12	0
	10	9	25
	15	14	17
	20	14	17
Columna 25	0	12	0
	10	12	0
	15	12	0
	20	12	0
Columna 50	0	13	8
	10	21	75
	15	21	75
	20	20	66

Como se observa en la tabla 4.2 el método de la autocorrelación, para la imagen con separación entre carriles, comienza a fallar para imágenes con separación entre carriles a partir de un 20% de ruido sumado a la imagen. A pesar de que las otras columnas tuvieran diferencias de un píxel, el comportamiento del sistema es imprevisible, pues dependiendo de la imagen procesada la columna que presenta un mayor porcentaje de error puede ser considerada una excepción y ese ancho se filtraría utilizando la mediana (sección 3.4 ) o puede formar parte de una mayoría y no ser filtrada. Con un 20% de ruido comienzan a aparecer máximos más cercanos al origen (figura 4.12) que se forman por la presencia de frecuencias de ruido más bajas que la de la aparición de los carriles.



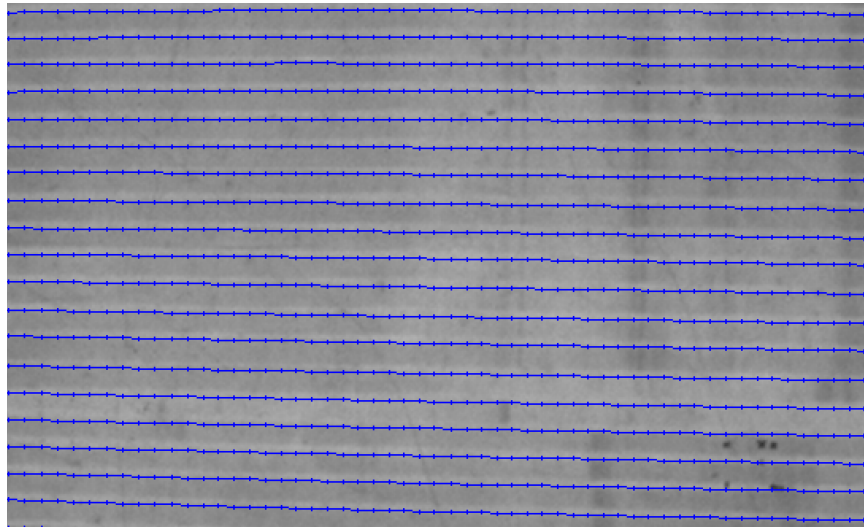
**Figura 4.12:** Columna 1 con 20% de ruido sumado. Marcado con un círculo el máximo más cercano al origen

Para la imagen sin separación entre carriles, se obtienen porcentajes de error más elevados respecto a la anterior, que se justifican con la presencia de ruido en la imagen presente previo a las pruebas que provoca que no exista una diferencia de tonalidad de gris en la transición de un carril a otro.

#### 4.4 Detección de carriles

##### 4.4.1 Imágenes con separación entre carriles

En la figura 4.13 se muestra la detección de carriles en una sección de la imagen de prueba 4.3 utilizando el algoritmo propuesto, 50 puntos para describir cada forma y un 95% de la varianza total del conjunto de entrenamiento considerada. En ésta las líneas azules indican los bordes de los carriles.



**Figura 4.13:** Detección de carriles con el algoritmo implementado

Para evaluar la detección se marcan los carriles manualmente sobre la imagen de la figura 4.1. Hecho esto se compara la detección utilizando el criterio humano con la obtenida utilizando el algoritmo. Sea  $M$  el número de formas,  $N$  la cantidad de puntos por cada una de ellas,  $p_{iy}$  la coordenada y del punto detectado por el criterio humano y  $j_{iy}$  la detectada por el computador el los dos criterios de evaluación se evalúa la diferencia utilizando:

$$D = \frac{1}{M * N} \sum_{i=0}^{M*N-1} |p_{iy} - j_{iy}| \quad (4.1)$$

**Tabla 4.4:** Desviación entre la detección de carriles manual y computarizada

<b>Tamaño de la forma</b>	<b>D (píxeles)</b>
20	4,1956
50	4,2165
80	4,3329
110	4,3161
140	4,3698

En la tabla 4.4 se puede observar que las desviaciones en la detección de carriles no son dependientes de la cantidad de puntos dado que las diferencias entre ellas no superan los 0,2 píxeles.

Se mide la detección de carriles en función del porcentaje de la varianza total del conjunto de entrenamiento utilizada en la creación del ASM, manteniendo la cantidad de puntos por forma en 110.

**Tabla 4.5:** Desviación en la detección de carriles en función del porcentaje del total de la varianza utilizada en el entrenamiento

<b>Porcentaje de la varianza total (%) / dimensiones utilizadas</b>	<b>D (píxeles)</b>
50/1	4,2512
80/2	4,3161
96/3	4,2836
100/220	4,2537

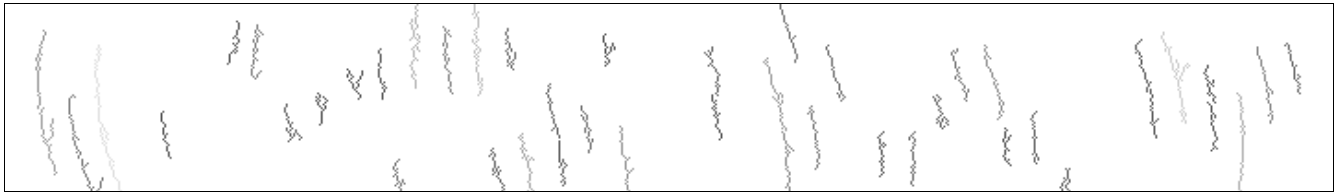
De acuerdo con la tabla 4.5 la detección de los carriles no es afectada por el número de dimensiones consideradas, sin embargo, como se verá en la siguiente sección, esto no implica que se dé una mejor corrección de las distorsiones.

Adicionalmente se realizan pruebas de sensibilidad al ruido en la imagen para la detección de carriles, utilizando la misma técnica de inducción de ruido de la sección 4.3. Se mantiene el número de puntos por forma y se utilizan 2 dimensiones para el ASM. Los resultados se tabulan a continuación.

**Tabla 4.6:** Desviación media en los carriles en función del ruido inducido en la imagen

Porcentaje de ruido (%)	D (píxeles)
10	4,48715
15	4,4818
20	4,4100

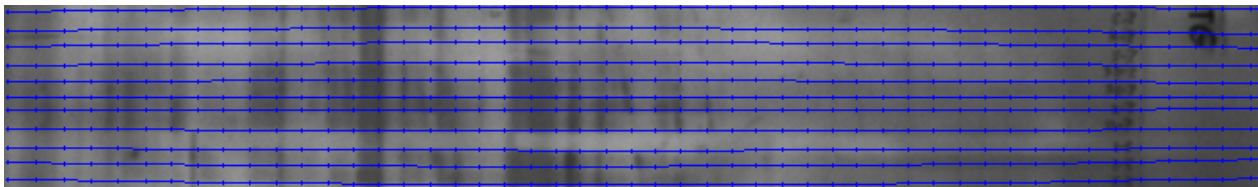
Comparando con el valor de desviación obtenido en ausencia de ruido (4,3161) se puede ver que hay un aumento que se debe a que en la búsqueda de líneas de puntos conectados (ver sección 3.5) no se encuentra alguna lo suficientemente grande (el parámetro de tamaño mínimo permitido se ajustó para un 95% de la cantidad de filas de *maxFinal*) como lo muestra la figura 4.14. Por lo que el paso 5 explicado en la sección 3.5 no es tomado en cuenta.



**Figura 4.14:** Detección de líneas de puntos conectados con un 10% de ruido sumado a la imagen

#### 4.4.2 Imágenes sin separación entre carriles

En la figura se muestra la detección de carriles utilizando el algoritmo para una sección de la imagen 4.4.



**Figura 4.15:** Detección de carriles para una sección de la figura 4.4

Se realizan mediciones de la desviación en función de el tamaño de las formas y de la cantidad de dimensiones utilizando solamente la sección de la imagen mostrada en la figura 4.15.

**Tabla 4.7:** Desviación entre la detección de carriles manual y computarizada

Tamaño de la forma	D (píxeles)
20	1,5743
30	1,7065
40	1,0750
50	3,0308

Es notable la disminución en la desviación hasta los 40 puntos, a partir de ahí comienza a aumentar ya que no se detectan líneas con suficientes puntos conectados como lo muestra la figura 4.16.



**Figura 4.16:** Líneas detectadas para la medición de la desviación con 50 puntos

En la siguiente tabla se observan los resultados de la desviación en función de la cantidad de dimensiones utilizadas. Para el caso se utilizan formas con 50 puntos.

**Tabla 4.8:** Desviación en la detección de carriles en función del porcentaje del total de la varianza utilizada en el entrenamiento

Porcentaje de la varianza total (%)/dimensiones utilizadas	D (píxeles)
50/1	3,0716
80/2	3,0381
96/3	3,0596
100/100	3,1149

Se observa que la desviación promedio en la detección de carriles presenta poca variación. Sin embargo, se verá en la siguiente sección que no implica una buena corrección de las distorsiones.

## 4.5 Rectificación de la imagen

### 4.5.1 Imágenes con separación entre carriles

El proceso iterativo de ajuste y el del mapeo que rectifica la imagen se evalúan en esta sección obteniendo la desviación estándar de tres distintos carriles (etiquetados como 1, 2 y 3) antes y luego de la rectificación.

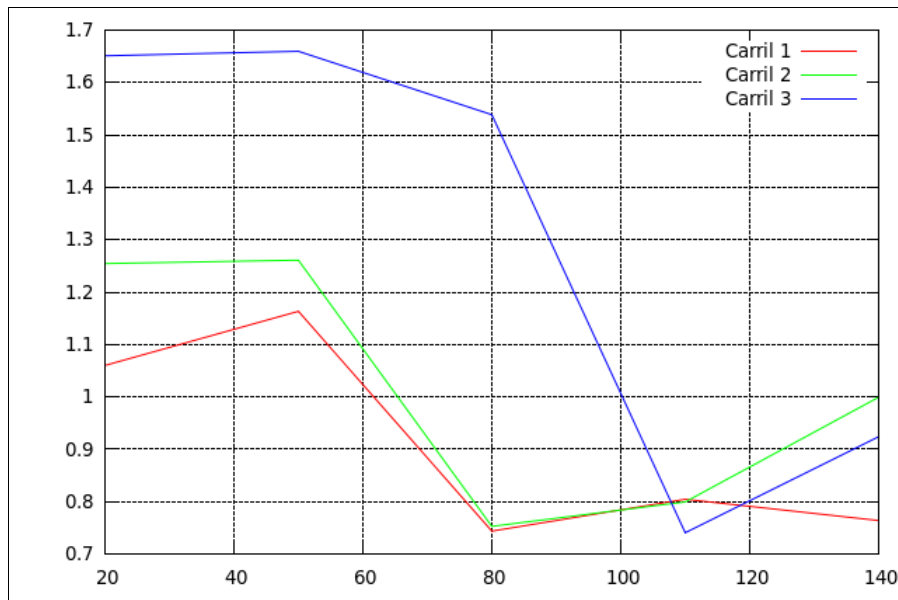
Se evalúa variando la cantidad de puntos por forma, obteniendo las desviaciones estándar de los carriles antes y después de la rectificación. Adicionalmente se grafican las desviaciones luego de la rectificación (figura 4.17).

**Tabla 4.9:** Desviación estándar inicial de los carriles

<b>Carril</b>	<b>Desviación estándar antes de la rectificación (píxeles)</b>
1	8,2797
2	1,8139
3	8,4060

**Tabla 4.10:** Desviación estándar de los carriles luego de la rectificación en función del número de puntos por forma

<b>Tamaño de la forma</b>	<b>Desviación estándar post-corrección (píxeles)</b>		
	<b>Carril 1</b>	<b>Carril 2</b>	<b>Carril3</b>
20	1,0601	1,2546	1,6511
50	1,1634	1,2610	1,6597
80	0,7438	0,7529	1,5387
110	0,8046	0,7996	0,7407
140	0,7641	0,9994	0,9241

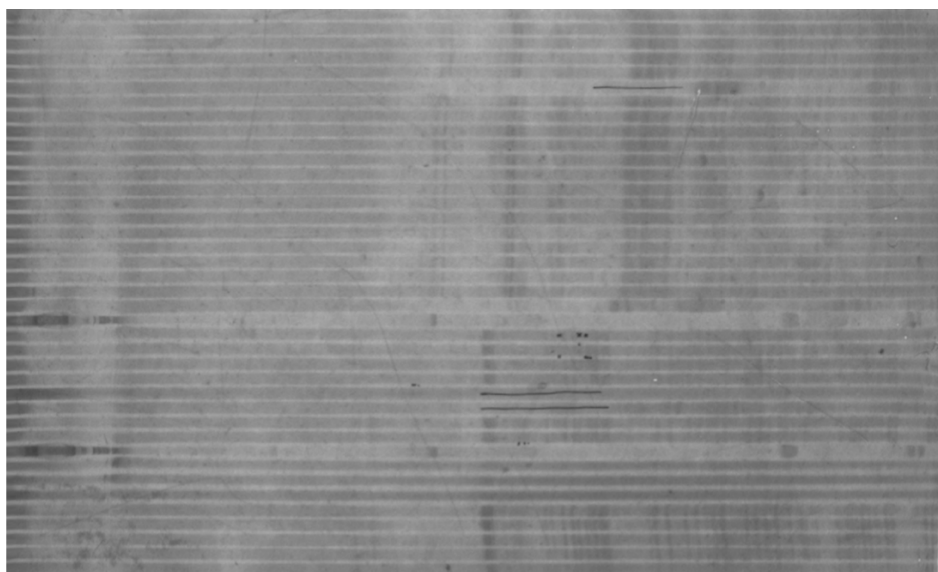


**Figura 4.17:** Desviación estándar de los carriles luego de la rectificación en función del número de puntos por forma

En ningún caso las desviaciones estándar fueron más altas que la inicial, lo que indica que siempre se redujeron las distorsiones. El hecho de que la desviación no se acercara a cero se debe a factores como distorsiones en los carriles que no son consideradas en el entrenamiento del modelo o imperfecciones en el proceso de creación de los geles como falta de uniformidad en el ancho de los carriles.

Para los tres carriles se nota una tendencia a aumentar la corrección conforme se aumenta el número de puntos. Esto se debe a que al haber más puntos se describe la curvatura que presentan los carriles con mayor precisión.

El conjunto más bajo de desviaciones estándar se obtuvo para 110 puntos. El resultado de la imagen rectificadora para este caso se muestra en la figura 4.18



**Figura 4.18:** Imagen de prueba rectificada

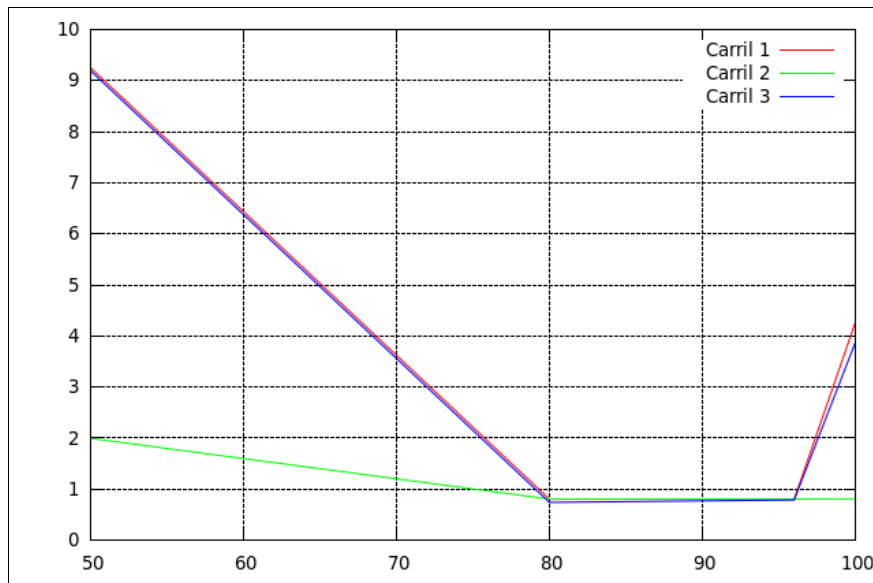
También se evalúa la corrección modificando el porcentaje de la varianza total del conjunto de entrenamiento que es considerada para determinar la cantidad de dimensiones utilizadas por el ASM. En este caso se fija el número de puntos por forma en 110. Los resultados se muestran en la tabla 4.11 y en la figura 4.19.

**Tabla 4.11:** Parámetros de los carriles luego de la rectificación en función del porcentaje de la varianza total utilizado

Porcentaje de la varianza total (%)/dimensiones utilizadas	Desviación estándar post-corrección (píxeles)		
	Carril 1	Carril 2	Carril 3
50/1	9,2502	1,9952	9,1922
80/2	0,8046	0,7996	0,7407
96/3	0,8023	0,8000	0,7890
100/220	4,2715	0,8120	3,8770

Se comprueba que el problema no puede ser representable en una sola dimensión y que un mínimo de dos es necesario. Se debe destacar que al usar todas las dimensiones se da al modelo la libertad de variar siguiendo cualquier forma del conjunto de entrenamiento, permitiendo que una forma adopte distorsiones que no están dentro del rango considerado.

Utilizando 110 puntos para el tamaño de las formas y 2 dimensiones consideradas por el ASM se realiza la prueba de sensibilidad al ruido para la rectificación de la imagen.

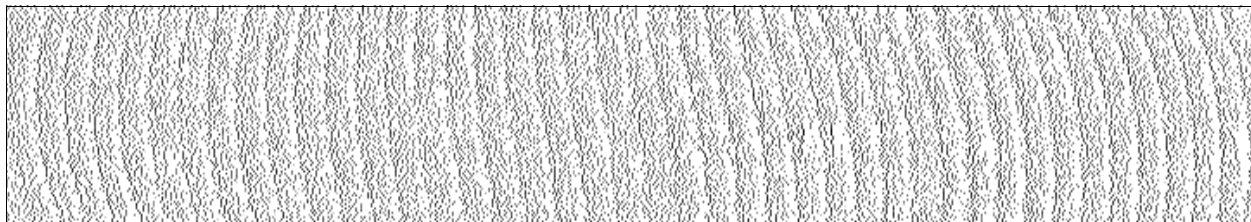


**Figura 4.19:** Desviación estándar de los carriles post-corrección en función del porcentaje de varianza considerado por el ASM

**Tabla 4.12:** Desviación estándar post-corrección en función del porcentaje de ruido sumado a la imagen

Porcentaje de ruido (%)	Desviación estándar post-corrección (píxeles)		
	Carril 1	Carril 2	Carril 3
10	1,3788	0,8762	0,7086
15	13,1116	7,3030	0,8537
20	5,2987	10,7200	3,5411

Se observa un aumento en las desviaciones estándar post-rectificación en contraste con los valores obtenidos sin presencia de ruido (tabla 4.10). Esto se debe a que el resultado de la detección de máximos es ruidoso, por lo que en el proceso iterativo las formas se ajustan a máximos que no son válidos.

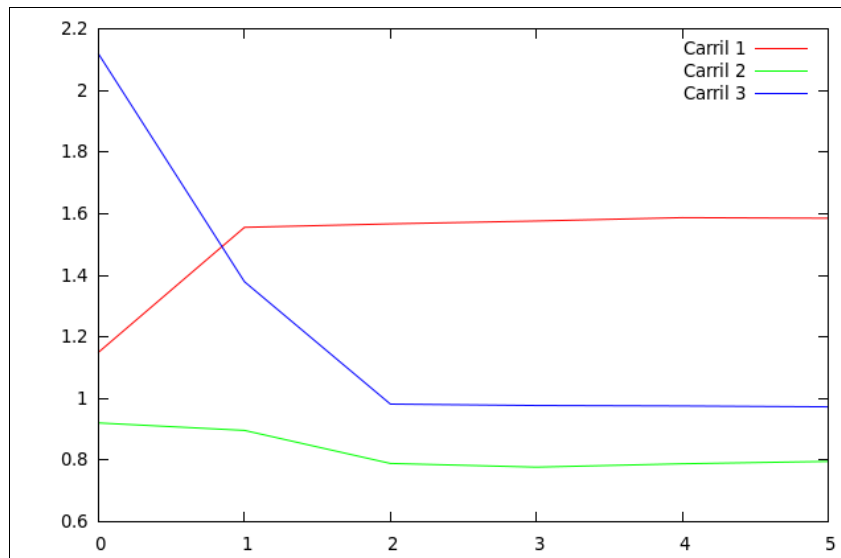


**Figura 4.20:** Resultado de la detección de máximos con un 20% de ruido sumado a la figura

Se desea medir el efecto de las iteraciones sobre el resultado final. Para esto se mantienen 110 pts y un 95% del total de la varianza y se procede a medir la desviación estándar de los carriles luego de la rectificación. Los resultados se tabulan a continuación y se grafican en 4.21.

**Tabla 4.13:** Desviación estándar post-corrección en función del número de iteraciones

Número de iteraciones	Desviación estándar post-corrección (píxeles)		
	Carril 1	Carril 2	Carril3
0	1,1504	0,9210	2,1183
1	1,5556	0,8967	1,3792
2	1,5671	0,7896	0,9821
3	1,5763	0,7775	0,9776
4	1,5872	0,7885	0,9760
5	1,5853	0,7961	0,9733



**Figura 4.21:** Desviación estándar post corrección en función del número de iteraciones

A pesar de que la desviación del carril 1 aumentó su varianza la mayor tendencia es a la disminución, por lo que se comprueba la necesidad del proceso iterativo. Se observa además que el punto de convergencia se alcanza en 2 iteraciones.

#### **4.5.2 Imágenes sin separación entre carriles**

Para las imágenes sin separación entre carriles se procede de la misma forma que en aquellas con separación para medir la desviación estándar en función de el tamaño de las formas, la fracción de la varianza total considerada y el número de iteraciones.

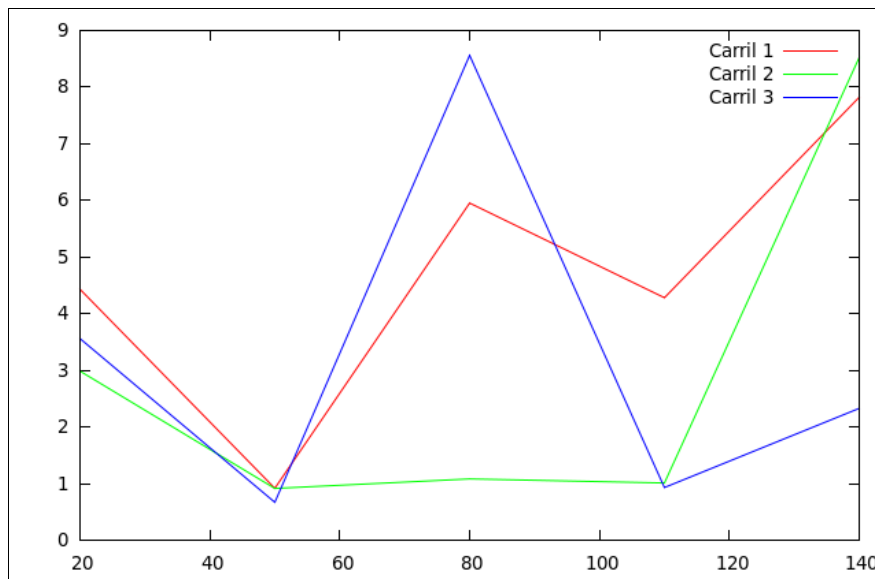
**Tabla 4.14:** Desviación estándar inicial de los carriles de prueba

Carril	Desviación estándar antes de la rectificación (píxeles)
1	4,3746
2	0,6498
3	2,4177

En la tabla 4.15 se observan los resultados de variar el tamaño de la forma y su efecto en la desviación estándar, estos se grafican en la figura 4.22.

**Tabla 4.15:** Desviación estándar post-corrección en función del tamaño de la forma

Tamaño de la forma	Desviación estándar post-corrección (píxeles)		
	Carril 1	Carril 2	Carril3
20	4,4323	2,9873	3,5618
50	0,9192	0,9168	0,6713
80	5,9546	1,0843	8,5612
110	4,2830	1,0131	0,9324
140	7,8224	8,5253	2,3300



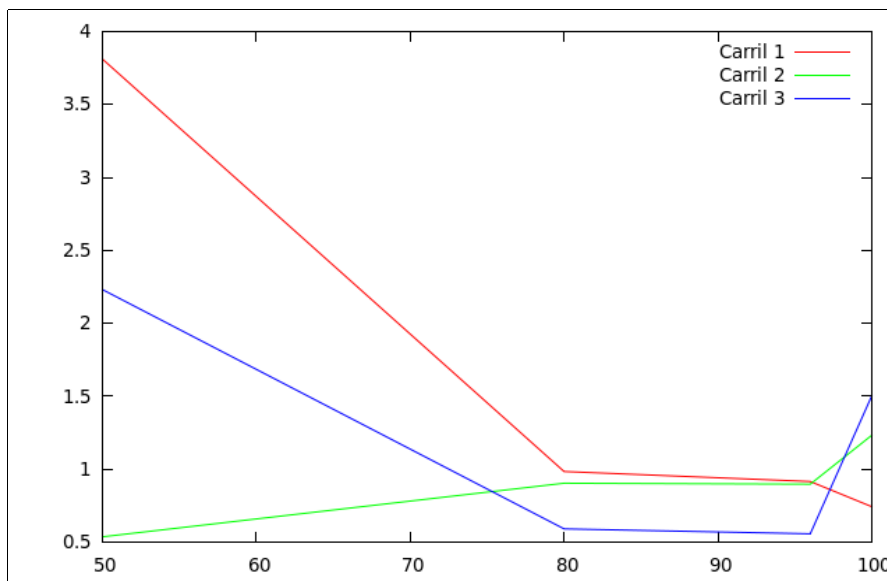
**Figura 4.22:** Desviación estándar de los carriles luego de la rectificación en función del tamaño de la forma

Después de los 50 puntos donde se obtiene el menor conjunto de desviaciones se observa una tendencia al aumento que se justifica porque no se encuentran líneas conectadas lo suficientemente grandes para filtrar máximos intermedios entre los carriles.

En la siguiente tabla y la posterior figura se muestran los resultados obtener la desviación estándar post-corrección en función del total de varianza considerada por el ASM. Se utilizan formas de un tamaño de 50 puntos.

**Tabla 4.16:** Desviación estándar luego de la rectificación en función del total de varianza considerado

Porcentaje de la varianza total (%)/dimensiones utilizadas	Desviación estándar post-corrección (píxeles)		
	Carril 1	Carril 2	Carril 3
50/1	3,8114	0,5376	2,2317
80/2	0,9851	0,9049	0,5919
96/3	0,9163	0,8980	0,5580
100/100	0,7437	1,2336	1,5041



**Figura 4.23:** Desviación estándar luego de la rectificación en función del total de varianza considerada por el ASM

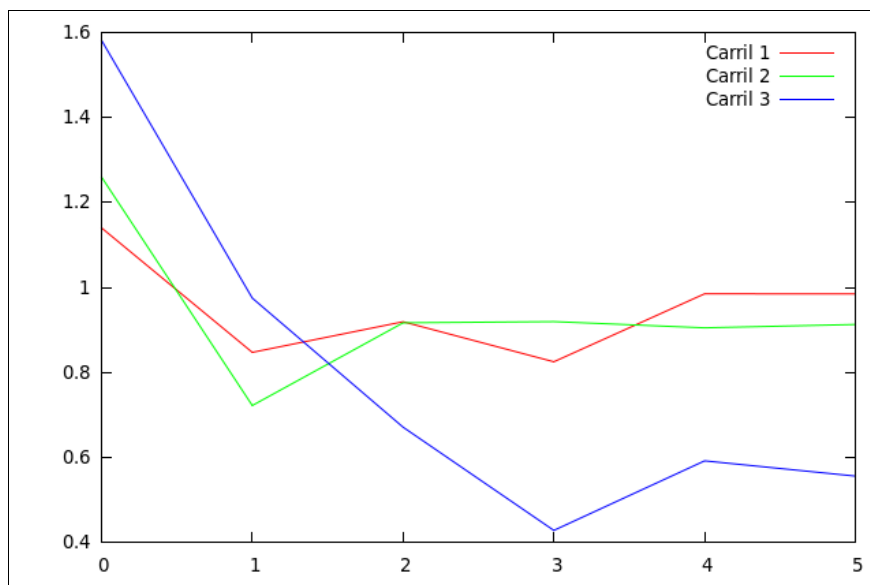
Existe un comportamiento muy similar al obtenido con las imágenes con separación entre carriles donde se puede ver que se requiere de un mínimo de 2 dimensiones para representar el conjunto de formas y si se utilizan todas las dimensiones se permiten variaciones no registradas por el conjunto de entrenamiento.

Se obtuvo el efecto del número de iteraciones sobre la rectificación de la imagen para los geles sin separación entre carriles. Para esto se fija el número de puntos por forma en 50

y se considera un 80% del total de la varianza del conjunto de entrenamiento. Los resultados se resumen en la tabla 4.17 y se grafican en la figura 4.24.

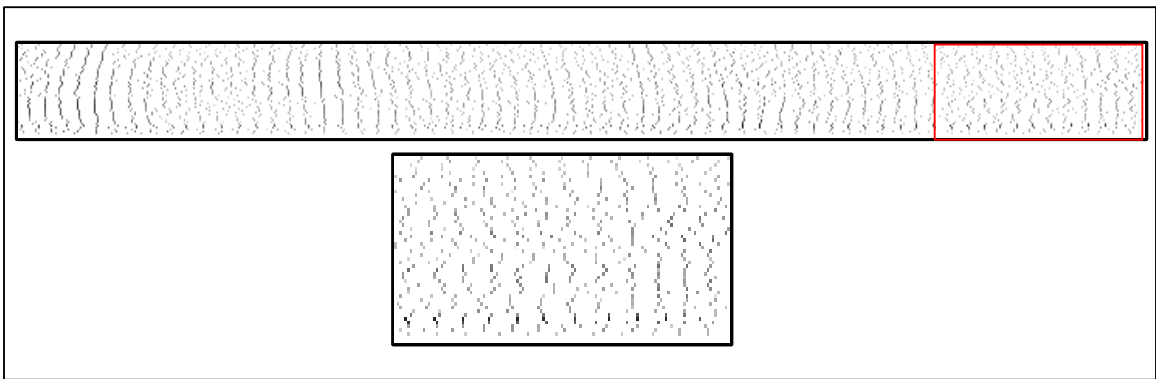
**Tabla 4.17:** Desviación estándar post-rectificación en función del número de iteraciones

Número de iteraciones	Desviación estándar post-corrección (píxeles)		
	Carril 1	Carril 2	Carril 3
0	1,1403	1,2599	1,5816
1	0,8472	0,7221	0,9749
2	0,9192	0,9167	0,6712
3	0,8251	0,9196	0,4281
4	0,9851	0,9049	0,5919
5	0,9848	0,9128	0,5560



**Figura 4.24:** Desviación estándar post-rectificación en función del número de iteraciones

Se comprueba la necesidad del proceso iterativo al observar que el conjunto de desviaciones se reduce hasta la tercera iteración. Después de ésta se presenta una alza en las desviaciones estándar debida a que la información de la posición de los carriles no es correcta, es decir, en *maxFinal* existen máximos intermedios entre carriles que no fueron eliminados y/o no existen máximos en la posición donde debería estar el carril. Esto se ilustra en la figura donde se obtuvo *maxFinal* para la imagen de prueba utilizando 50 puntos y un acercamiento al área dentro del rectángulo rojo donde se puede observar el efecto explicado.



**Figura 4.25:** Imagen *maxFinal* para el gel sin separación entre carriles usando 50 puntos

## Capítulo 5 .Conclusiones y recomendaciones

### 5.1 Conclusiones

Se ha propuesto utilizar un *Modelo Activo de Forma* capaz de ajustarse a los bordes de los carriles en una imagen de un gel de electroforesis, de forma que represente las distorsiones ópticas que éstos puedan presentar. Para esta construcción se parte de modelos de distorsión óptica teóricos, comprobando que éstos pueden ser modelados utilizando 2 dimensiones de un espacio multidimensional dado por (2.5), aún cuando se tienen 220 dimensiones (110 puntos). Esta reducción implica una menor cantidad de información que debe ser procesada traduciéndose en menor cantidad de cálculos y de datos almacenados.

Se comprueba que usando el modelo con todas las dimensiones se permite que las formas puedan variar libremente sobre el *Espacio Permisible de Formas* generando formas que no son representadas por el conjunto de entrenamiento.

Para ajustar las formas a los bordes de los carriles se utilizaron 2 métodos: el de la red neuronal y el gradiente, donde por una inspección cualitativa se determinó que el segundo tiene mejores resultados.

Con el fin de ubicar las formas sobre la imagen es necesario encontrar el ancho de los carriles. El método de la autocorrelación de las columnas del gradiente resulta preciso (diferencias de un píxel) hasta con un 15% de ruido blanco gaussiano inducido en la imagen.

Se logra comprobar que el proceso iterativo de ajuste de las formas a la imagen es necesario para reducir la desviación estándar que presentan los carriles luego del proceso de rectificación. En cuanto a esta reducción se observó que los carriles con mayor desviación estándar previa a la rectificación (aproximadamente 8 píxeles) tienen una mayor reducción (de 6-7 unidades) que aquellos con baja desviación inicial (1-2 píxeles).

### 5.2 Recomendaciones

El método de búsqueda del primer máximo de la autocorrelación puede ser mejorado en el sentido que ignore aquellos máximos que el ruido pueda generar y que no corresponden al ancho del carril, también se pueden considerar otros algoritmos que cumplan la función de detectar estos anchos.

La detección inicial de los carriles es el punto de partida para el proceso iterativo y la rectificación, por lo que la creación de un algoritmo más robusto para ejecutar esta tarea disminuiría las desviaciones medias en la detección de carriles y la desviación estándar en la rectificación. En este caso, para entrenar la red neuronal se crearon imágenes de entrenamiento utilizando el criterio humano, es decir, los píxeles que son borde, no borde o los que podrían ser borde fueron etiquetados manualmente. En el punto previo a la

rectificación, cuando las formas están alineadas con los carriles, se pueden almacenar las mismas y utilizarlas para entrenar la red neuronal.

Se pueden utilizar las formas finales luego del proceso iterativo para entrenar el ASM de manera que curvas que realmente se encuentran en las imágenes (no teóricas) tengan un mayor peso al calcular la media y varianzas. Otra alternativa es, con estas formas calcular los parámetros  $a$  y  $b$  de (2.22) para volver a entrenar el ASM con estos parámetros de distorsión.

Se sugiere la investigación en algoritmos que puedan estimar la confiabilidad de los puntos de cada forma utilizando información de la imagen para integrarla en el proceso de alineamiento de formas y conversión al espacio de pesos.

## Referencias bibliográficas

- [1] R. García. *Corrección de distorsión geométrica y detección de carriles en imágenes de geles de electroforesis para la caracterización molecular de organismos por computador*. Instituto Tecnológico de Costa Rica, 2009.
- [2] T. F. Cootes, C. J. Taylor, D. H. Cooper y J. Graham. *Active Shape Models – Their Training and Application*. Department of Biophysics - University of Oxford, 1994.
- [3] P. Alvarado, A. Salazar, J. Araya, F. Hernández, L. Montero, O. Murillo, F. Rojas y J. Peraza. *Análisis de imágenes de geles de electroforesis para la caracterización molecular de organismos. Propuesta de Proyecto de Investigación*. VIE. Instituto Tecnológico de Costa Rica, 2009.
- [4] Christopher M. Bishop. *Neural Networks for Pattern Recognition*. Institute for Adaptive and Neural Computation. Oxford University Press, 1995.
- [5] Bernd Jähne. *Digital Image Processing*. Springer, 2005.
- [6] Gonzalez Rafael, Woods Richard. *Digital Image Processing*. Prentice Hall, 2008.
- [7] Abhishek Das, Dinesh Patil. *Efficient Measurement and Correction Techniques for Lens Distortion*. Stanford Center for Image Systems Engineering.
- [8] *Análisis Localizado de voz*. Universidad Autónoma de Madrid. Recuperado de [http://arantxa.ii.uam.es/~jortega/Tema2\\_TAPS\\_def.pdf](http://arantxa.ii.uam.es/~jortega/Tema2_TAPS_def.pdf) el 20 de mayo del 2010.
- [9] William H. Press, Saul A. Teukolsky, William T. Vetterling, Brian P. Flannery. *Numerical Recipes. The Art of Scientific Computing*. Tercera Edición. Cambridge University Press, 2007
- [10] Bailey Donald, Christie Bruce. *Processing of DNA and Protein Electrophoresis Gels by Image Analysis*. Image Analysis Unit and Plant Science Department, Massey University, Palmerston North.
- [11] Glasbey C, Vali L, Gustafsson J. 2005. *A statistical model for unwarping of 1-D electrophoresis gels*. Recuperado de <http://202.38.126.65/mirror/www.bioss.sari.ac.uk/~chris/> el 24 de mayo del 2010.
- [12] Sammon J. W. *A Nonlinear Mapping for Data Structure Analysis*. IEEE Computer Society, 1969
- [13] J. F. Canny. *A computational approach to edge detection*. IEEE Trans. Pattern Analysis and Machine Intelligence, 1986.

[14] Shlens Jonathon. *A tutorial on Principal Component Analysis*. Institute for Nonlinear Science, San Diego California, 2005