

Detección rápida de lesiones en el tracto genital femenino bajo, causadas por virus de papiloma humano, a través de técnicas de fluorescencia y procesamiento digital de imágenes

Rapid detection of lesions in the lower female genital tract, caused by human papilloma virus, through fluorescence techniques and digital image processing

A detecção rápida de lesões no trato genital inferior feminino, causada pelo vírus do papiloma humano, por meio de técnicas de fluorescência e de processamento de imagem digital

DOI: <http://dx.doi.org/10.23913/rics.v6i11.48>

Juan Manuel Peña Aguilar

Grupo Gestión Inteligente, México

juan_manuelp@hotmail.com

Margarita Josefina Hernández Alvarado

Universidad Autónoma de Querétaro, México

mago.hernandez@uaq.edu.mx

Patricia Basurto Lozada

Universidad Autónoma de Querétaro, México

pbasurto91@gmail.com

Proyecto aprobado por el programa de estímulos a la investigación, de desarrollo o de innovación tecnológica del CONACYT

Resumen

El cáncer cervicouterino continúa siendo un grave problema de salud en México: entre 95 y 99 % de los casos están asociados al virus del papiloma humano (Tovar-Guzmán, 2008). La detección oportuna de lesiones causadas por este virus es fundamental para la prevención y tratamiento de dicha enfermedad (Aguilar-Pérez, 2003). Una forma rápida de diagnosticar este tipo de enfermedades se puede lograr mediante el uso de técnicas no invasivas; en este sentido, las imágenes médicas representan la opción más viable, sin embargo, algunas de las desventajas de este método son el bajo contraste y la presencia de ruido, por lo que es importante desarrollar herramientas que contribuyan a la visualización y mejoramiento de las imágenes. El objetivo del presente trabajo es mejorar la capacidad diagnóstica de imágenes médicas producto del procedimiento colposcópico mediante el desarrollo de un software para la visualización, procesamiento y almacenamiento de video e imágenes médicas, específicamente para la detección rápida de lesiones en el tracto genital femenino ocasionadas por el virus del papiloma humano. Se implementaron filtros digitales para mejorar la visualización de dichas lesiones, los cuales incluyen filtrado manual y automático de fluorescencia para imágenes y la detección en tiempo real mediante el procesamiento de video.

Palabras clave: colposcopia, VPH, fluorescencia, procesamiento imágenes.

Abstract

Cervical cancer remains a serious health problem in Mexico: between 95 and 99% of the cases are associated with human papilloma virus (Tovar-Guzmán, 2008). The timely detection of lesions caused by this virus is essential for the prevention and treatment of the disease (Aguilar-Pérez, 2003). A quick way to diagnose such diseases can be achieved through the use of non-invasive techniques; in this sense, medical imaging represents the most viable option, However, some of the disadvantages of this method are the low contrast and the presence of noise, so it is important to develop tools that help display and enhancement of the images. The objective of this work is to improve the diagnostic capability of medical imaging product of the colposcopic procedure through the development of a software for the display, processing and storage of video and medical images, specifically for the detection fast of injuries in the female tract genital caused by the human papilloma virus. Digital filters were implemented to improve the

visualization of these lesions, which include filtering manual and automatic fluorescence imaging and detection in real-time video processing.

Key Words: colposcopy, HPV, fluorescence, processing images.

Resumo

O câncer cervical continua a ser um grave problema de saúde no México: entre 95 e 99% dos casos estão associados com papilomavírus humano (Tovar-Guzmán, 2008) de vírus. A detecção atempada de lesões causadas por este vírus é essencial para a prevenção e tratamento da doença (Aguilar-Pérez, 2003). Uma maneira rápida para diagnosticar estas doenças pode ser conseguida utilizando técnicas não invasivas; A este respeito, imagens médicas representam a opção mais viável, no entanto, algumas das desvantagens deste método são o baixo contraste e a presença de ruído, de modo que é importante para desenvolver ferramentas de reforço que ajudam a visualização e imagem. O objetivo deste trabalho é melhorar procedimento colposcópico produto imagiologia médica de diagnóstico através do desenvolvimento de software para visualização, processamento e armazenamento de vídeo e imagens médicas, especificamente para a rápida detecção de lesões no trato genital feminina causada por o vírus do papiloma humano. filtros digitais foram implementadas para melhorar a visualização dessas lesões, que incluem filtragem manual e automático para imagens e detecção de fluorescência, usando processamento de vídeo em tempo real.

Palavras-chave: imagens colposcopia, HPV, fluorescência, de processamento.

Fecha recepción: Agosto 2016

Fecha aceptación: Enero 2017

Introducción

El cáncer cervicouterino es una enfermedad de lenta progresión que se desarrolla como consecuencia de la infección persistente ocasionada por alguno de los tipos de virus del papiloma humano (VPH), identificados como de alto riesgo y vinculados con este cáncer. Dichos virus ocasionan gradualmente lesiones epiteliales en la región cervical, las cuales evolucionan en cáncer cervicouterino (Gutiérrez-Delgado et al., 2008).

El cáncer cervicouterino es el segundo cáncer ginecológico más común en el mundo y se estima que 275 000 mujeres mueren cada año a causa de cáncer cervical (Bourgioti et al., 2016). Por otro lado, se considera que la población femenina de origen latinoamericano se encuentra en alto riesgo de desarrollar cáncer cervicouterino. Estudios comparativos demuestran que las tasas de mortalidad más altas con respecto a este tipo de cáncer corresponden a Chile y México. En nuestro país, el cáncer cervicouterino es la primera causa de muerte por neoplasias en mujeres mayores de 25 años (Hidalgo-Martínez, 2006). Cabe destacar que este tipo de cáncer es una enfermedad prevenible si se diagnostica de manera oportuna y se da tratamiento adecuado a las lesiones premalignas (Aguilar-Pérez, 2003).

Para poder mejorar las exploraciones cervicales y establecer las formas iniciales de cáncer cervicouterino, Hans Hinselman diseñó en 1924 el primer colposcopio, un aparato con el que se realiza un procedimiento conocido como colposcopia, con el que se puede examinar el epitelio del tracto genital femenino (Vera Gaspar et al., 2013).

Las colposcopias tradicionales tienen la desventaja de que sus falsos positivos fluctúan entre 4 y 33 % y los falsos negativos entre 40 y 62 %. Estas fluctuaciones se deben principalmente a que la información que se obtiene de una colposcopia tradicional tiene un alto grado de subjetividad y el diagnóstico depende de la interpretación del colposcopista (Aroch Calderón et al., 2005).

El uso de técnicas de fluorescencia permite una mejor visualización de las lesiones causadas por el virus del papiloma humano, a través del uso de ácido acético como agente mordente y fluorocromos específicos. En este caso se utiliza isotocianato de fluoresceína (FITC), un reactivo frente a nucleófilos, incluyendo grupos amina y sulfihidrido de proteína, con un espectro de excitación de máximo 492nm y mínimo de 320nm. La emisión máxima se realiza a los 518nm en la región verde azulada del espectro. La técnica de detección de lesiones por VPH a través de la aplicación de FITC se basa en una mayor presencia de proteínas coaguladas en células infectadas con VPH y tratadas con ácido acético, lo que genera una mayor absorción del fluorocromo (Vera Gaspar et al., 2013).

Para poder observar la fluorescencia adecuadamente y con suficiente contraste se debe atenuar la luz de excitación pero no la señal de fluorescencia. Para esto se requiere el uso de filtros. Comúnmente se utilizan filtros ópticos que están presentes físicamente en los dispositivos (Reichman, 2012). El objetivo de este trabajo es desarrollar un software que permita visualizar mejor dicha fluorescencia y, en consecuencia, que facilite la detección de lesiones causadas por

VPH. En este caso el uso de filtros digitales permite visualizar mejor la fluorescencia, evita la necesidad de cambiar físicamente los diferentes filtros y reduce el ruido en la imagen, por lo que también disminuye la probabilidad de falsos positivos. De igual manera, el desarrollo y uso de otros filtros puede mejorar la visualización de lesiones después de la aplicación de técnicas tradicionales en procesos colposcópicas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del método

El software desarrollado junto con la aplicación de filtros para mejorar la visualización de lesiones es capaz de detectar automáticamente ciertas lesiones en las imágenes producto del proceso colposcópico. Para detectar dichas lesiones se realizó el siguiente procedimiento: primero se hizo un cambio de resolución en la imagen adquirida y se seleccionó el espacio de color más adecuado; después se hizo una umbralización y filtrado en el dominio de frecuencia, enseguida se realizó un énfasis en altas frecuencias y posteriormente se aplicó un análisis multiescalas mediante la transformada wavelet; finalmente se localizaron las coordenadas para la detección y visualización de la lesión.

Implementación de filtros

Para mejorar la visualización de lesiones se realizó la implementación de filtros de descomposición y procesamiento de señales mediante diferentes filtros con objetivos específicos para cada uno. Después se generó un filtro de escala de grises, donde se descompone la imagen en RGB (Red, Green, Blue) aplicando graduaciones de luminosidad a los píxeles, con una opción desde cero hasta uno.

Se generó un filtro negativo para mejorar la visualización del acetoblanqueo del tejido para detección de lesiones, que fue generado utilizando el complemento del valor de cada píxel de la imagen. Más adelante para la visualización de la fluorescencia generada por el FITC se consideró la composición de la fluorescencia en el espacio de color RGB (Red, Green, Blue) en los rangos de longitud de onda en los que el FITC tiene su máxima emisión. De esa manera se creó un filtro que mejora el contraste y visualización de dicha fluorescencia, reduciendo las bandas de colores azul y rojo.

El primer paso consistió en ecualizar las imágenes con el objetivo de redistribuir los valores del histograma de la imagen. En el filtro para visualización de fluorescencia manual, la

descomposición en RGB (ec. 1) se realiza con base en un umbral marcado por el usuario, descrito en la ec. 2:

$$R(x, y) = img(:, :, 1) \quad (1)$$

$$G(x, y) = img(:, :, 2)$$

$$B(x, y) = img(:, :, 3)$$

$$img \quad (2)$$

$$= \begin{cases} R = R(x, y) * \left(\frac{1}{\alpha\Delta + 1}\right), & R < \theta \\ G = G(x, y) * (\beta\Delta), & G < \theta \\ B = B(x, y) * \left(\frac{1}{\alpha\Delta + 1}\right), & B < \theta \end{cases}$$

Donde:

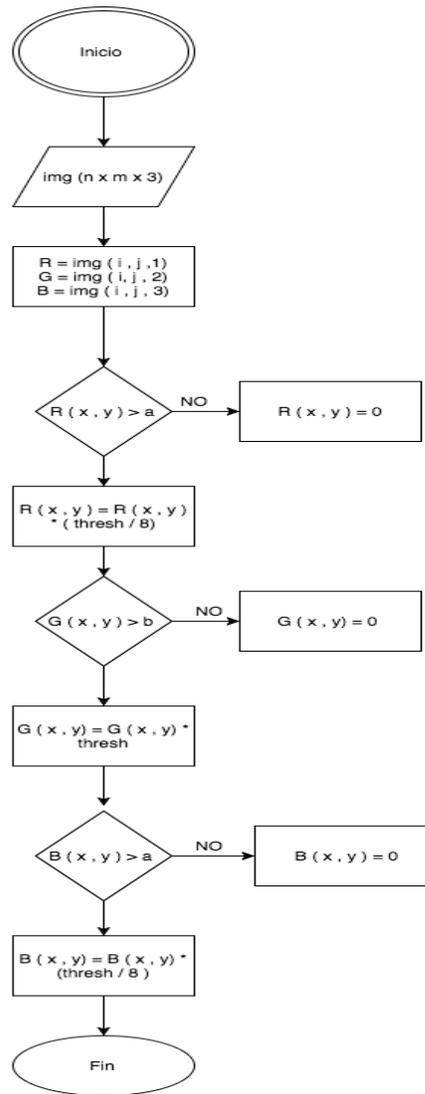
Δ : Aumento dado por el usuario

α y β : Coeficientes dados para la supresión y aumento de bandas.

img: Matriz fuente de $n \times m \times 3$ dimensiones

Para el filtro de visualización de fluorescencia el software evalúa de forma automática la composición de la imagen y resalta el espectro de color que describe una coordenada con presencia de fluorescencia. Esto se logra al establecer un límite (*a*) para el valor de R y B, y un límite (*b*) para el valor de G. Si el valor de R o B es mayor que *a*, su valor es multiplicado por 0. En el caso de que el valor esté por debajo de *a*, el valor de R será reducido. Si el valor de G es mayor a *b*, su valor es multiplicado por un valor establecido. De esta manera se intensifica el valor del componente G y se atenúan los valores de los componentes R y B, permitiendo mejor visualización de la fluorescencia del FITC, ya que esta se encuentra en la zona verde azulada del espectro. Los valores de R y B sólo se atenúan y no se suprimen ya que forman parte del componente G (Figura 1).

Figura 1. Diagrama de flujo de filtro de detección de fluorescencia.



La figura muestra el proceso que lleva a cabo el software para la detección y visualización de fluorescencia en imágenes adquiridas por colposcopia.

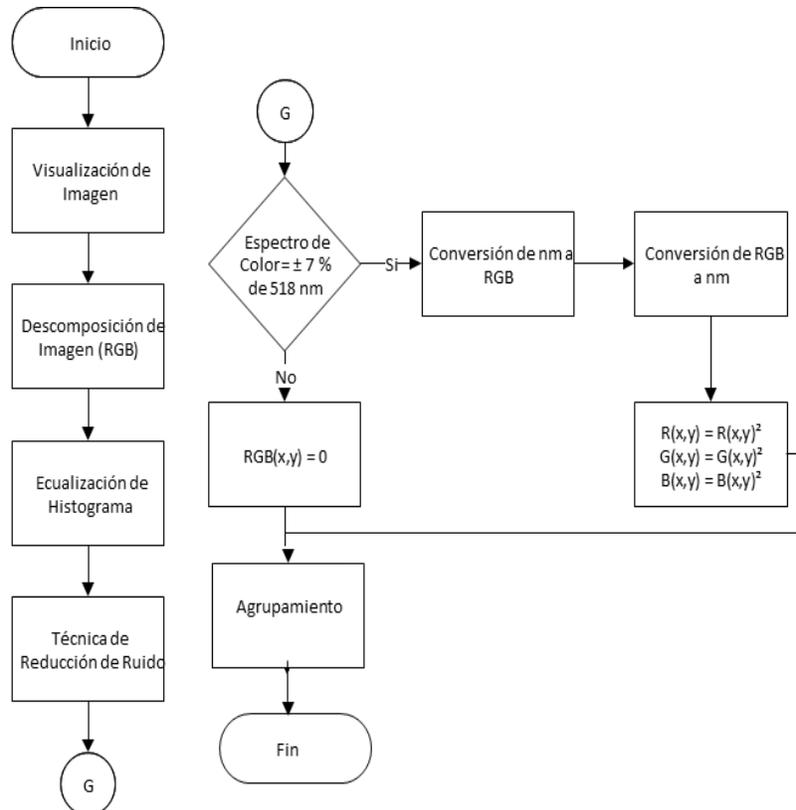
Para el filtro de detección de fluorescencia automático se utilizaron los siguientes métodos:

- Ecuación de Histograma Adaptable con Contraste Limitado (CLAHE por sus siglas en inglés). Este método busca reducir el ruido producido por la Ecuación de Histograma Adaptable en áreas homogéneas.

- Método Non-Local Means Denoising (Buades et al., 2011).

Para la eliminación de ruido en forma de puntos lejanos se utilizó el Fuzzy C- Means Clustering, en el que se usaron las distancias entre los píxeles que presentaban fluorescencia y se eliminaron los puntos cuya función de membresía estuviera debajo del promedio (figura 2).

Figura 2. Diagrama general para detección de fluorescencia.



El diagrama muestra la secuencia de pasos utilizados desde la adquisición de la imagen y todos los pasos del procesamiento para la detección de fluorescencia.

Pruebas del software

Se realizaron pruebas con el software generado para comprobar la funcionalidad de los filtros y del sistema de detección de lesiones. Para esto se utilizaron imágenes adquiridas de videos de colposcopias realizadas previamente y en las que se utilizaron las técnicas del ácido acético, prueba de Schiller y aplicación de FITC. Después se aplicaron los filtros del software generado a las imágenes correspondientes a partir de la técnica utilizada en cada imagen y se compararon las

imágenes previas a la aplicación del filtro, así como la aplicación del filtro para observar una mejor distinción de las lesiones presentes en las imágenes. Se enfatizó la detección de fluorescencia de manera manual y de manera automática por parte del software, buscando la visualización selectiva del rango de longitud de onda de emisión del FITC. Lo mismo se hizo al evaluar la eliminación de ruido en el filtro para la visualización de fluorescencia a través del filtro automático.

RESULTADOS

Resultados de las pruebas

La aplicación de los diferentes filtros incluidos en el software fue exitosa, por lo que se pudieron observar a través de la interfaz gráfica del software las imágenes originales y las imágenes procesadas después de la aplicación del filtro (figura 3 para el filtro en escala de grises y figura 4 para el filtro en negativo).

Figura 3. Filtro en escala de grises

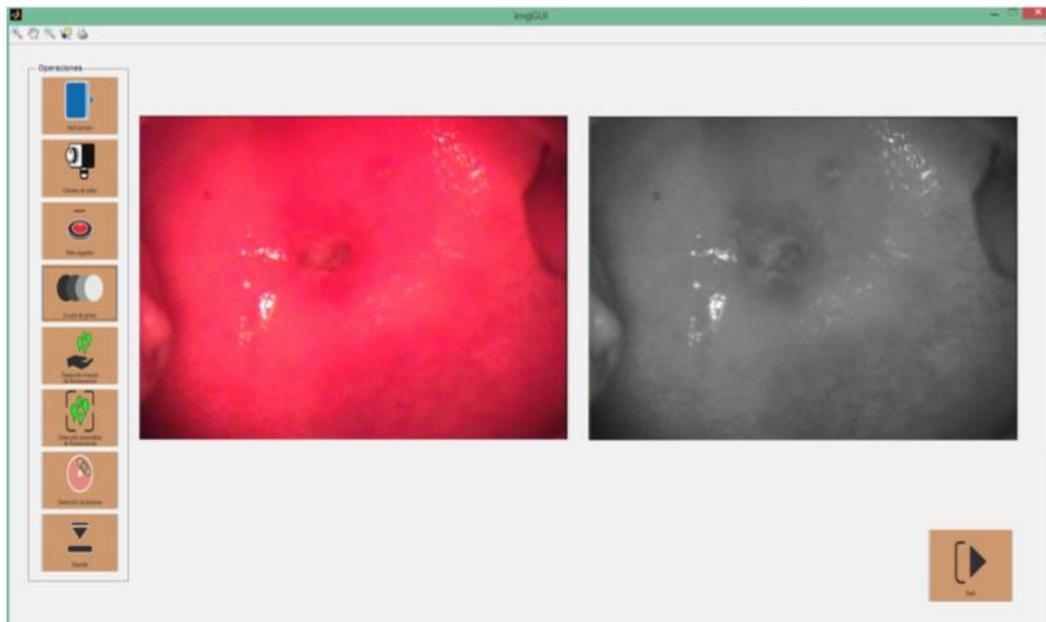
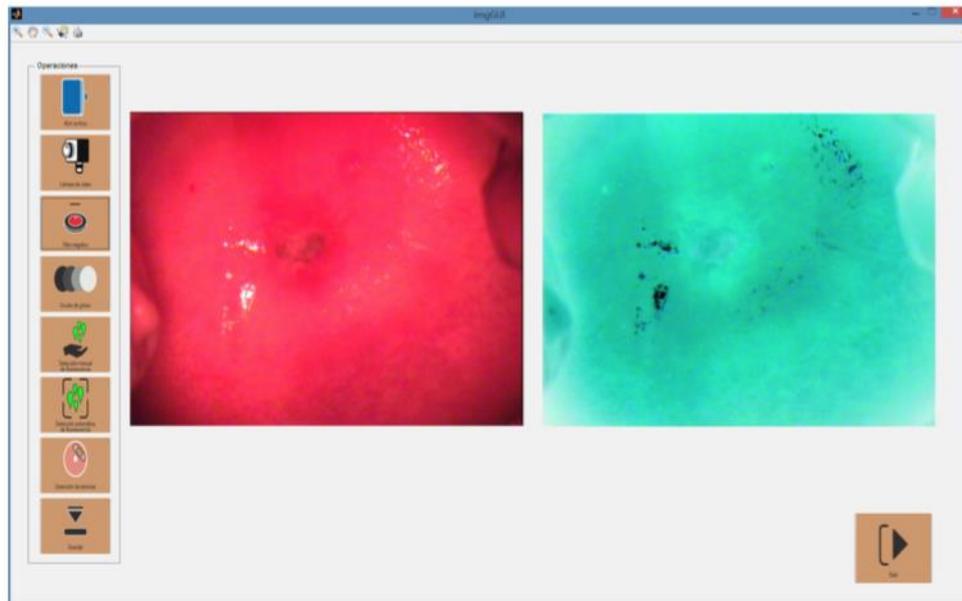


Figura 4. Filtro en negativo



Asimismo se detectó con éxito la fluorescencia de manera selectiva para la longitud de onda de emisión del FITC. En la versión de detección manual se observó mayor cantidad de fluorescencia y puntos dispersos de la misma, lo que pudo indicar presencia de ruido y haber generado falsos positivos. En el caso de la detección automática también se detectó la fluorescencia en la longitud de onda de emisión del FITC, sin embargo, se observó menor cantidad de puntos de fluorescencia dispersos en la imagen, mostrando una buena eliminación de ruido en esta y disminución en la probabilidad de generar falsos positivos (figura 5).

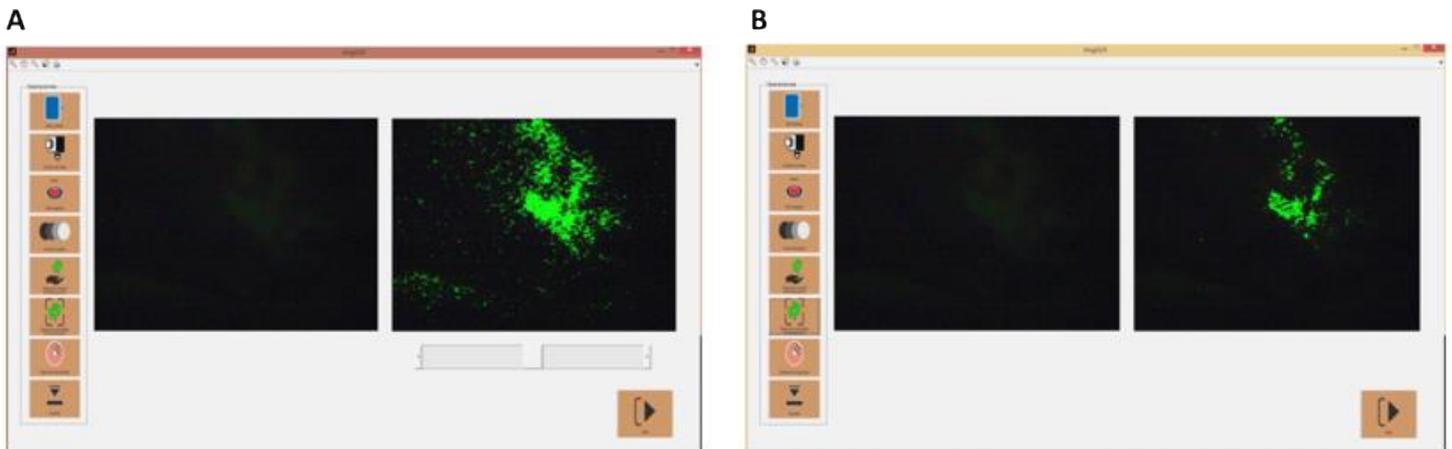
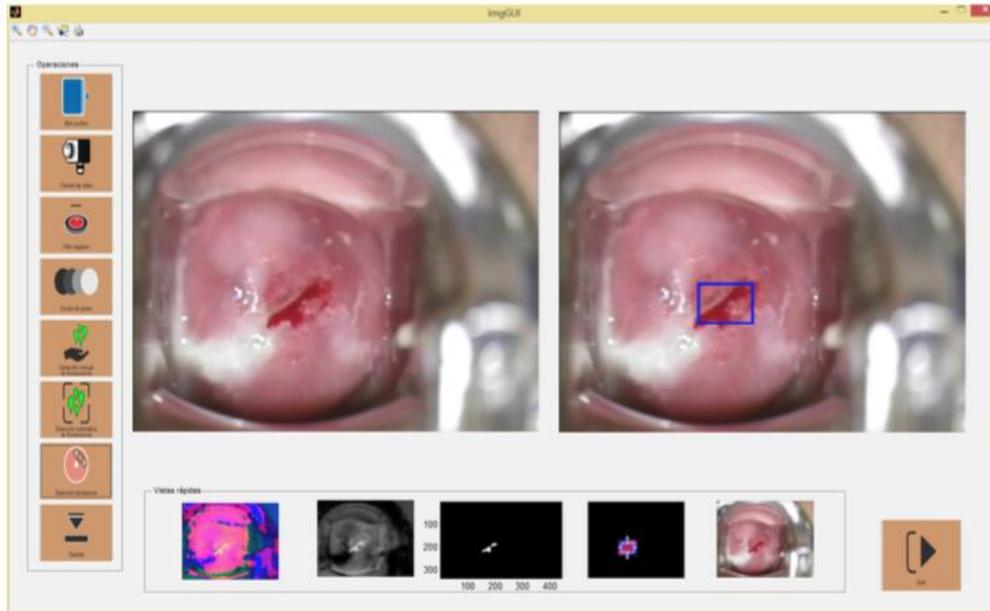


Fig. 5. Filtros de detección de fluorescencia manual y automático. La figura muestra los resultados de la detección de fluorescencia a través del filtro manual A y a través del filtro automático B. Observándose menor puntos de fluorescencia dispersos en el filtro automático.

Se observó también que el software fue capaz de identificar lesiones automáticamente, pero únicamente en lesiones que se mostraban como puntos de alta frecuencia en la imagen (figura 6).

Figura 6. Detección automática de lesiones



Descripción del software

Con este trabajo se generó un software para detectar lesiones causadas por el virus del papiloma humano en el tracto genital femenino bajo. Este software puede integrarse a colposcopios que utilizan las técnicas más comunes en los estudios colposcópicos, incluyendo la visualización de lesiones después de la aplicación de solución salina, aplicación de ácido acético o lugol, así como a colposcopios que utilizan la aplicación de FITC para visualizar lesiones de VPH.

DISCUSIÓN

El software es capaz de procesar las imágenes adquiridas a través de una cámara fotográfica o de video integrada al colposcopio. El procesamiento de imágenes incluye la aplicación de cuatro filtros: un filtro en escala de grises, un filtro en negativo, un filtro para visualización de fluorescencia manual y un filtro para visualización de fluorescencia automático. Además puede detectar automáticamente algunos tipos de lesiones en el tejido que se muestran como puntos de alta frecuencia. El filtro en negativo tiene como objetivo mejorar la visualización del

acetoblanqueo generado en las lesiones después de la aplicación de ácido acético. Por su parte, el filtro en escala de grises tiene el objetivo de mejorar la visualización del estado del tejido del tracto genital aminorando la interferencia de brillos causados por la iluminación del colposcopio. El filtro manual para fluorescencia permite la visualización de la fluorescencia en el espectro específico del FITC y el filtro de detección automática permite esta visualización al tiempo que es capaz de reducir el ruido de la imagen. Asimismo, el software presenta una interfaz gráfica amigable al usuario, lo que permite guardar las imágenes después de su procesamiento y aplicación de los filtros, de tal forma que puedan ser incluidos en los historiales de los pacientes.

CONCLUSIONES

La generación de este software puede servir como una herramienta de apoyo en la detección de lesiones causadas por el virus del papiloma humano en el tracto genital femenino bajo y también para el rápido diagnóstico o prevención de cáncer cervicouterino. Por tanto, este software ha demostrado ser útil en la detección de dichas lesiones y disminuir la subjetividad de los estudios colposcópicos, poniendo especial énfasis en la técnica de aplicación de FITC específica para las lesiones generadas por VPH. Se recomienda mejorar la detección automática de lesiones, por lo que se requiere establecer patrones en las imágenes que puedan estar relacionados con lesiones ocasionadas por el VPH.

Bibliografía

- Aguilar-Pérez, J.A., Leyva-López, A.G., Angulo-Nájera, D., Salinas, A. y Lazcano-Ponce (2003). Tamizaje en cáncer cervical: conocimiento de la utilidad y uso de citología cervical en México. *Rev Salud Pública*, 37(1), 100-6.
- Aroch Calderón, A., Díaz Sánchez, J.G., Zertuche Ouani, J.G. y Ohara, G.B. (2005). Nueva técnica colposcópica para la prevención de cáncer cervicouterino. *Revista de la Facultad de Medicina UNAM*, 48(2), 47-51.
- Bourgioti, C., Chatoupis, K. y Mouloupoulos, L.A. (2016). Current imaging strategies for the evaluation of uterine cervical cancer. *World Journal of Radiology*, 8(4), 342-354.
- Buades, A., Coll, B., Matem, D., Km, C. V., Mallorca, P. D., Morel, J.-m., and Cachan, E. N. S. (2011). A non-local algorithm for image denoising. (0):0-5.
- Gutiérrez-Delgado, C., Báez-Mendoza, C., González-Pier, E., de la Rosa, A. P. y Witlen, R. (2008). Generalized cost-effectiveness of preventive interventions against cervical cancer in Mexican women: results of a Markov model from the public sector perspective. *Salud Pública de México*, 50(2), 107-118.
- Hidalgo-Martínez, A.C. (2006). El cáncer cérvico-uterino, su impacto en México y por qué no funciona el programa nacional de detección oportuna. *Rev Biomed*, 17, 81-84.
- Reichman, J. (2012). Handbook of optical filters for fluorescence microscopy. Chroma Technology Corp.
<https://www.chroma.com/sites/default/files/HandbookofOpticalFilters.pdf>
- Tovar Guzmán, V.C., Ortiz Contreras, F., Jiménez Gauna, F. y Valencia Vázquez (2008). Panorama epidemiológico de la mortalidad por cáncer cervicouterino en México (1989-2004). *Rev Fac Med UNAM*, 5(2), 47-51.
- Vera Gaspar, D., Peña, Jiménez, A.E. y Rojas Sánchez, T. (2013). Colposcopia de luz actínica, validez para detección de lesiones cervicales producidas por virus del papiloma humano. *Revista de Enfermedades del Tracto Genital Inferior*. 7(1), 12-17.